



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

EFEITO DA CLAUDICAÇÃO NA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS EM BOVINOS  
DE LEITE

Fernando Nuno Vasco Ellis Costa Barjona de Freitas

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Graça Maria Alexandre Pires Lopes de Melo  
Doutor José Ricardo Dias Bexiga  
Dr. José Inácio Oliveira Alfaça

ORIENTADOR

Dr. José Inácio Oliveira Alfaça

CO-ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2013

LISBOA

---





UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

EFEITO DA CLAUDICAÇÃO NA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS EM BOVINOS  
DE LEITE

Fernando Nuno Vasco Ellis Costa Barjona de Freitas

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Graça Maria Alexandre Pires Lopes de Melo  
Doutor José Ricardo Dias Bexiga  
Dr. José Inácio Oliveira Alfaça

ORIENTADOR

Dr. José Inácio Oliveira Alfaça

CO-ORIENTADOR

Doutor George Thomas Stilwell

2013

LISBOA

---

## **Agradecimentos**

A todo o pessoal da Fonte do Leite, com especial destaque para o Dr. José Alface e ao Eng.º Jorge Franco.

Ao professor Dr. George Stilwell.

À minha família.

À Gabriela.



# EFEITO DA CLAUDICAÇÃO NA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS EM BOVINOS DE LEITE

## Resumo

As claudicações em vacas de leite são um problema crescente nas explorações intensivas modernas, constituindo uma ameaça grave ao bem-estar animal e afectando drasticamente a rentabilidade económica. As suas consequências a nível da qualidade do leite, com destaque para o seu efeito na contagem de células somáticas (CSS) não são, no entanto, ainda claras.

Foram analisados registos de 404 ocorrências independentes de claudicações numa exploração intensiva e as CCS mensais das respectivas vacas num período de um ano antes e um ano depois de cada observação. Estes valores foram comparados com os dos animais saudáveis nas mesmas condições. Observou-se um aumento significativo na CCS das vacas claudicantes nos 60 dias após a ocorrência da claudicação ( $p=0,05$ ), chegando a ser superior às dos animais não afectados em 75,4%. Verificou-se também que as alterações nas CCS são influenciadas por claudicações num período de desde 4 meses antes até 7 meses após a sua ocorrência.

A gravidade das lesões correlacionou-se com a magnitude dos aumentos nas contagens e as CCS dos animais cuja claudicação foi associada a lesões múltiplas foram superiores às das vacas com úlceras da sola ou dermatite digital.

As alterações no comportamento e na imunidade poderão ser os factores mais importantes nesta relação, pelo que a vigilância e tratamentos precoces, associados a um correcto manejo, especialmente a nível da limpeza das camas e parques são medidas com bons resultados a nível financeiro e de bem-estar animal.

**Palavras-Chave:** Claudicações; Contagem de células somáticas; Qualidade do leite.



# THE EFFECTS OF LAMENESS ON THE VARIATION OF SOMATIC CELL COUNTS IN DAIRY CATTLE

## **Abstract**

Lameness in dairy cattle is a growing concern in modern intensive farming, causing serious welfare problems and reducing economic profitability. Its effects on milk quality, especially on somatic cell counts (SCC), remains unclear.

The records of 404 independent occurrences of lameness in an intensive dairy farm and the monthly SCC of the respective cows in a period of one year before and one year after each occurrence were analyzed. These values were compared with those of non-lame animals kept under the same conditions. A significant increase in the SCC of lame cows within 60 days after the occurrence of lameness was observed ( $p = 0.05$ ). These values were greater than the ones belonging to non-affected animals by up to 75.4%. It was also observed that SCC variations are influenced by lameness during a period ranging from 4 months before to 7 months after its occurrence.

It was also shown that a greater increase in SCC correlates with the severity of the lesion. Also, the SCC of cows whose lameness was associated with multiple lesions were higher than those of cows with sole ulcers or digital dermatitis.

The most important factors in this relationship are changes in behavior and immunity, therefore close vigilance and early treatments, together with proper management, especially related with bedding and housing cleanliness, are measures with good overall results regarding financial aspects and good animal welfare.

**Key Words:** Lameness; Somatic cell counts; Milk quality.





# Índice

Agradecimentos .....	i
Resumo .....	iii
Abstract .....	v
Índice .....	vii
Lista de figuras .....	ix
Lista de tabelas .....	x
Lista de gráficos .....	x
Lista de abreviaturas e siglas .....	xi
1. Introdução .....	1
1.1. Objectivos e características da produção leiteira .....	1
1.2. O problema da claudicação .....	2
2. Revisão bibliográfica .....	4
2.1. Bem-estar animal .....	4
2.2. Claudicações .....	6
2.2.1. Anatomia da úngula .....	7
2.2.2. Laminite (Coriose) .....	9
2.2.3. Outros factores predisponentes .....	11
2.2.4. Cortes funcionais .....	12
2.2.5. Úlceras da sola .....	13
2.2.6. Dermatite digital .....	14
2.2.7. Fissuras .....	16
2.2.8. Consequências de claudicações .....	17
2.3. Contagem de células somáticas (CCS) .....	18
2.4. Outros mecanismos de defesa do úbere .....	19
2.4.1. Barreiras físicas .....	19
2.4.2. Anticorpos .....	20
2.4.3. Lactoferrina .....	20
2.4.4. Lisozima .....	20
2.4.5. Lactoperoxidase .....	21
2.5. Mastite .....	21
2.5.1. Agentes patogénicos maiores .....	22
2.5.2. Agentes patogénicos menores .....	27
2.5.3. Consequências das mastites .....	27
3. Material e métodos .....	29
3.1. Objectivos .....	29
3.2. Caracterização da população .....	29
3.3. Recolha de dados .....	30
3.4. Análise estatística .....	32
4. Resultados .....	33
4.1. Registos totais .....	33
4.1.1. Análise descritiva .....	33
4.1.2. Análise estatística .....	35
4.2. Tipo e gravidade da lesão .....	37
4.2.1. Análise descritiva .....	37
4.2.2. Análise estatística .....	38
5. Discussão .....	40
6. Conclusão .....	47
Bibliografia .....	48
Anexo 1 – Relatório de estágio .....	54

Anexo 2 - Exemplo da tabela utilizada para organização das CCS com base na data de ocorrência de claudicação. ....	57
Anexo 3 - Exemplo da tabela utilizada para organização das CCS relativamente à data de ocorrência de claudicação e tipo / gravidade da lesão. ....	58

## Lista de figuras

Figura 1 – Resumo do obectivo principal de uma exploração leiteira e aspectos sobre os quais se devem aplicar boas práticas de produção (adaptado de FAO & IDF, 2011). .....	1
Figura 2 – Desenho do corte sagital de uma úngula de bovino, revelando a sua anatomia interna (adaptado de <a href="http://www.doctorjhoofcare.com/">http://www.doctorjhoofcare.com/</a> ). .....	7
Figura 3 – Esquema da extremidade distal de um membro de bovino, evidenciando a divisão entre sola e bulbo (adaptado de Greenough, 2007, pág.245) .....	8
Figura 4 – Estágios de laminite subclínica (adaptado de Nocek, 1996). .....	10
Figura 5 – Os tempos de espera à entrada da sala de ordenha podem ser prejudiciais para a saúde podal, especialmente para os últimos animais e em pisos duros, abrasivos ou irregulares (retirado de Greenough, 2007, pág.73). .....	11
Figura 6 – Comparação entre a postura normal de uma vaca e a de uma afectada por claudicação nos membros posteriores (adaptado de University of Pennsylvania School of Veterinary, disponível em <a href="http://cal.vet.upenn.edu">http://cal.vet.upenn.edu</a> ) .....	12
Figura 7 – Úlcera da sola (fotografia original). .....	13
Figura 8 – Localizações comuns de lesões de dermatite digital (retirado de <a href="http://www.veehof.co.nz/">http://www.veehof.co.nz/</a> ). .....	14
Figura 9 – Lesão típica de dermatite digital (retirado de <a href="http://www.progressivedairy.com">www.progressivedairy.com</a> ). .....	15
Figura 10 – Úngula apresentando fissura vertical (retirado de <a href="http://www.merckmanuals.com">http://www.merckmanuals.com</a> ). .....	16
Figura 11 – Vaca com fissuras horizontais em pelo menos duas úngulas (retirado de <a href="http://www.mgar.com.br">http://www.mgar.com.br</a> ). .....	16
Figura 12 – Contador automático de células somáticas (retirado de <a href="http://www.delaval.com">www.delaval.com</a> ). .....	18
Figura 13 – Anatomia interna do úbere (adaptado de Frandson, 2002). .....	19
Figura 14 – Mastite gangrenosa afectando o quarto posterior direito, causado por <i>Staph. aureus</i> (retirado de Divers & Peek, 2008, pág.361). .....	23
Figura 15 – As camas de palha mantidas em más condições de higiene propiciam a ocorrência de mastite por coliformes devido ao contacto dos tetos com matéria fecal (retirado de Scott et al., 2011, pág.217). .....	23
Figura 16 – Leite anormal e úbere inflamado devido a mastite por E.Coli (retirado de Scott et al., 2011, pág.220). .....	24
Figura 17 – Secreção anormal do úbere devido a infecção por M. bovis (retirado de Scott et al., 2011, pág.219). .....	25
Figura 18 – Ficha individual de saúde podal utilizada para registo de ocorrências de claudicação. ....	30
Figura 19 – Úlcera da sola ligeira (fotografia original). .....	31
Figura 20 – Úlcera da sola moderada (retirado de Greenough, 2007, pág.85). .....	31
Figura 21 - Úlcera da sola grave (fotografia original). .....	31
Figura 22 – Dermatite digital ligeira (retirado de Greenough, 2007, pág.208). .....	31
Figura 23 - Dermatite digital moderada (retirado de Scott et al., 2011, pág.178). .....	31
Figura 24 - Dermatite digital grave (retirado de Divers & Peek, 2008, pág.478). .....	31
Figura 25 – Fissura horizontal ligeira (retirado de Greenough, 2007, pág.48). .....	31
Figura 26 - Fissura horizontal moderada (retirado de Greenough, 2007, pág.39). .....	31
Figura 27 - Fissura horizontal grave (retirado de Greenough, 2007, pág.234). .....	31
Figura 28 – Vaca com canal do teto aberto em contacto com o material das camas (retirado de Scott et al., 2011, pág.217). .....	41
Figura 29 – As vacas incluídas neste estudo estavam alojadas em parques colectivos com camas individuais de areia com tamanho adequado (fotografia original). .....	42

## Lista de tabelas

Tabela 1 – Distribuição da gravidade e tipo das lesões dos animais claudicantes. ....	33
Tabela 2 – Análise descritiva da CCS do total das vacas claudicantes e dos diferentes tipos e gravidades de lesões causadoras de claudicação no período de 12 meses antes e 12 meses após a observação inicial da claudicação (x).....	34
Tabela 3 - Valores t , respecivas significâncias e intervalos de confiança dos testes t-student realizados aos animais claudicantes nos 12 meses antes (x-12 a x-1) e 12 meses depois (x+1 a x+12) de se ter observado claudicação , em comparação com o valor médio dos animais não-claudicantes. ( $\alpha = 0,05$ ). ....	35
Tabela 4 - Tabela ANOVA para amostras de tamanhos diferentes para as observações entre 4 meses antes e 7 meses depois da ocorrência da claudicação.....	36
Tabela 5 – Frequências relativas das CCS médias mensais de animais clasudicantes com diferentes tipos e gravidade de lesão , expressos em percentagens. ....	38
Tabela 6 – Significâncias dos testes de Kruskal-Williams e Mann-Whitney U para determinação de diferenças entre grupos. ....	39

## Lista de gráficos

Gráfico 1 – Evolução dos resultados dos contrastes leiteiros em Portugal nos últimos 35 anos (adaptado de Martins, 2010).....	5
Gráfico 2 – Variação relativa da CCS mensal da totalidade das vacas claudicantes no período de 12 meses antes (x-12 a x-1) e 12 meses depois (x+1 a x+12) de terem sido observadas claudicantes. A azul está assinalado o intervalo máximo no qual a variação da CCS destas vacas não pode ser atribuído apenas a ocorrências aleatórias. ....	36
Gráfico 3 – Distinção da evolução da CCS dos animais claudicantes no período de 4 meses antes (x-4 a x-1) e 7 meses depois (x+1 a x+7) da ocorrência do episódio inicial, com base no tipo de claudicação.....	37
Gráfico 4 – Distinção da evolução da CCS dos animais claudicantes no período de 4 meses antes (x-4 a x-1) e meses depois (x+1 a x+7) da ocorrência do episódio inicial, com base na gravidade da claudicação.....	37

## **Lista de abreviaturas e siglas**

ANOVA – Análise de variância

CCS – Contagem de células somáticas

cél. - células

*Coryne.* – *Corynebacterium*

D / N. I. – Desconhecido / Não Identificado

*E. Coli* – *Escherichia Coli*

FAO – Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura

GC – Grau de claudicação

IDF – International Dairy Federation

IgG – Imunoglobulina G

L – Litro

LPS – Lipossacarídeos

*M. bovis* – *Mycoplasma bovis*

mL – Mililitro

MPM – Metaloproteinases de matriz

PMN - Polimorfonucleares neutrófilos

SARA – Acidose ruminal sub-aguda

SCN – Staphylococcus coagulase-negativos

*Staph.* - *Staphylococcus*

*Strep.* – *Streptococcus*

TMR – Total Mixed Rations

TNF- $\alpha$  – Factor de necrose tumoral alfa

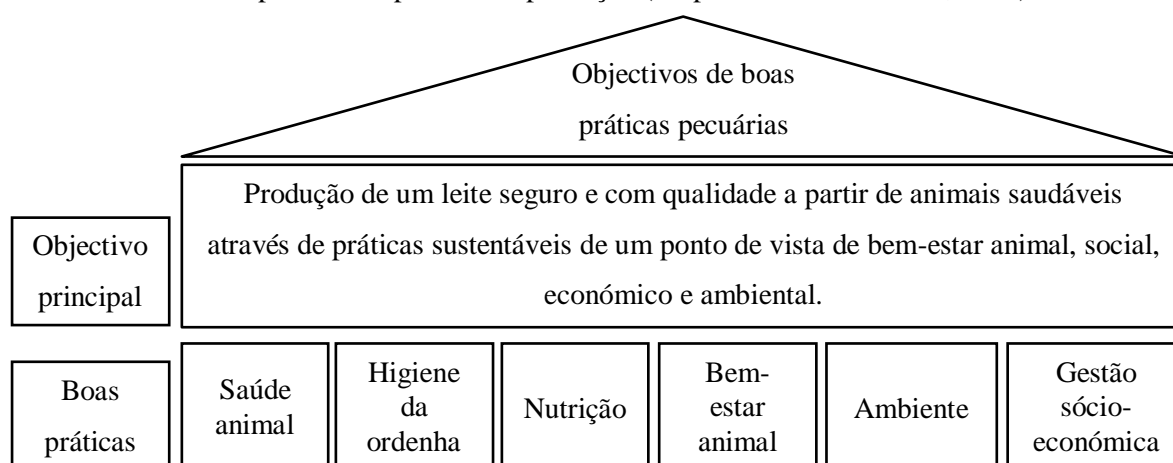


## 1. Introdução

### 1.1. Objectivos e características da produção leiteira

Os sistemas de produção leiteira devem ser capazes de combinar a sua rentabilidade com a responsabilidade de protecção da saúde humana e animal, do bem-estar animal e do ambiente. Ao mesmo tempo, deve ser dada a oportunidade aos produtores de adicionar valor ao seu produto através de práticas que satisfaçam as exigências da indústria e do mercado. Estas práticas devem garantir que o leite produzido, bem como os seus derivados, sejam seguros e adequados para o uso desejado e, ainda assegurar a viabilidade futura da exploração leiteira, a nível económico, social e ambiental. Acima de tudo, os produtores têm a obrigação de garantir a qualidade e segurança do leite que produzem. Estes objectivos podem ser atingidos através da utilização de boas práticas de produção nas áreas de saúde e bem-estar animal, nutrição, higiene da ordenha, gestão ambiental e económico-social (FAO & IDF, 2011) (Figura 1).

**Figura 1** – Resumo do objectivo principal de uma exploração leiteira e aspectos sobre os quais se devem aplicar boas práticas de produção (adaptado de FAO & IDF, 2011).



É também verdade que as crescentes pressões económicas sobre a indústria leiteira têm forçado os produtores a uma constante procura de maximização da sua eficiência, resultando em mudanças significativas no manejo dos seus efectivos. Algumas destas mudanças têm vindo a comprometer o bem-estar animal, sendo certo que a baixa rentabilidade da actividade leiteira tem comprometido o investimento e a manutenção de muitas explorações, o que, por sua vez, tem dificultado o progresso na redução da incidência de claudicações, mastites e doenças metabólicas (Farm Animal Welfare Council, 2009a). Ao mesmo tempo, a comunicação social e a opinião pública, especialmente os grupos de defesa dos direitos dos animais, têm vindo a pressionar os governos de modo a ser criada uma nova legislação que



regule os métodos de manejo dos animais de produção com o objectivo de melhorar o seu bem-estar, o que normalmente significa um aumento dos custos para os produtores.

A prevalência de claudicação em bovinos de leite é um problema com características específicas, que merece uma análise mais próxima.

## **1.2. O problema da claudicação**

Ninguém nega o interesse em diminuir a prevalência de claudicações em qualquer sistema de produção animal. Apesar da unanimidade desta ideia, na realidade não só não tem sido possível eliminar as claudicações das nossas explorações, como este problema parece estar a tornar-se cada vez mais relevante. Num estudo realizado na Holanda junto de produtores de leite (Brujinis et al., 2013), foi relatado que, embora estes valorizem o bem-estar dos animais, não o consideram como estando relacionado com a melhoria da saúde podal. Cerca de 30% dos produtores entrevistados não tinham mesmo qualquer intenção de tomar acções no sentido de melhorar este aspecto nos seus efectivos, nem acreditavam que as vacas sentiam dor.

A atenção dada nos últimos 50 anos ao estudo da claudicação vai de encontro a esta ideia. Neste período, em todo o mundo, o controlo de mastites tem sido o alvo de grande preocupação e investimento por parte da indústria leiteira, em grande contraste com a atenção dada à prevenção de claudicações (Archer et al., 2010; Huxley, 2012; Bicalho & Oikonomou, 2013). Recentemente, no entanto, este panorama parece começar a alterar-se, pois as claudicações já são largamente reconhecidas como uma das principais preocupações deste sector (Ito et al., 2010). As claudicações são uma das principais razões de abate prematuro de vacas leiteiras, geralmente representando cerca de 10% do total (Farm Animal Welfare Council, 2009a). São as afecções mais associadas a sinais de dor e desconforto na vaca, para além de levar a um aumento dos custos com veterinários, utilização do tempo dos funcionários, diminuição da produção de leite, comprometimento da fertilidade, perda de condição corporal e redução da vida produtiva (Bicalho & Oikonomou, 2013).

Quando se trata do momento de tomar decisões, sabe-se que estas devem ser feitas com lógica e baseadas em factos reais. Embora já existam vários estudos na área do custo de claudicações, especialmente em termos de diminuição de produção de leite que desencadeia, ainda há muito trabalho a ser feito, até porque a relação entre animais de alta produção e a ocorrência de claudicações é amplamente conhecida. Este facto pode conduzir os produtores a tomarem decisões erradas, levando-os a manter e/ou reproduzir animais que perpetuem estes problemas.

A obtenção da maior quantidade de informação possível é indispensável, e é nesse sentido que se enquadra o estudo apresentado. Os seus objectivos incluem:

- A investigação da ligação entre a ocorrência de claudicação e a variação da CCS;
- Caso presente, determinar qual o período em que essa variação ocorre, de modo a elucidar qual a relação causa-efeito existente;
- Relacionar as alterações nas CCS com o tipo e gravidade de lesão observado.

Espera-se que ao alcançar estes objectivos, este estudo permita fornecer mais alguma informação sobre este tema e servir como ferramenta prática no processo de decisões referentes à melhoria do bem-estar animal.

## **2. Revisão bibliográfica**

Nesta secção pretende-se abordar de uma forma geral as principais vertentes do assunto em estudo. O bem-estar animal é claramente o tema de fundo e como tal, o primeiro a ser discutido.

A claudicação, ligada ao bem-estar, é um dos dois aspectos de destaque, pelo que as suas causas, bem como os tipos de lesão observados no decorrer do estudo, são explorados em seguida.

É necessário também perceber o que são células somáticas para se poder explicar as variações nas suas contagens, bem como as causas que podem levar ao seu aumento. Neste ponto as mastites são o aspecto principal, pelo que nesta abordagem inicial será dada maior relevância às causas ligadas ao seu surgimento e aos principais agente patogénicos associados.

### **2.1. Bem-estar animal**

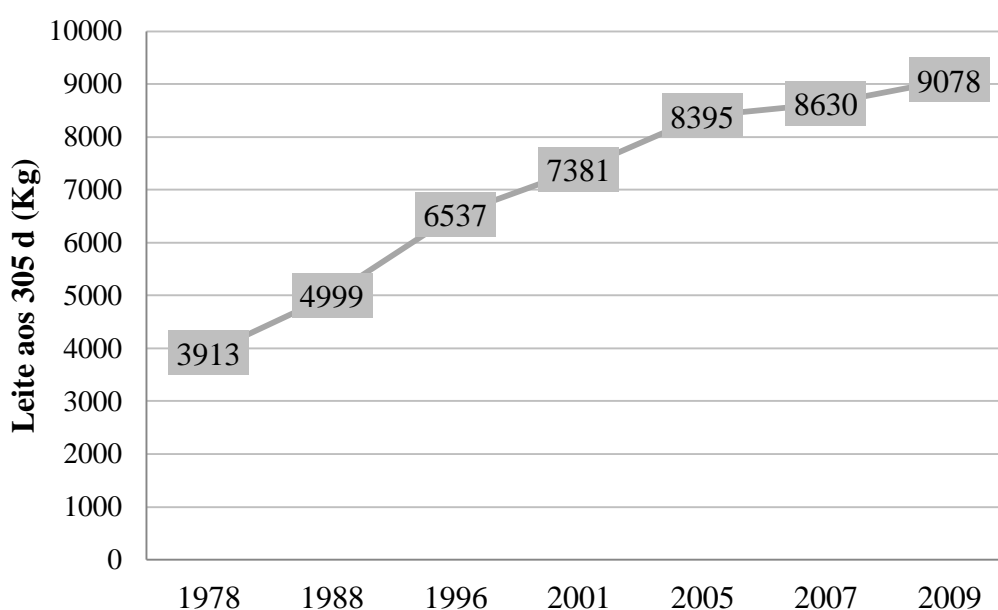
O bem-estar animal tem a ver com o seu estado físico e percepção das situações, não apenas com a sua saúde clínica. Considera-se como assentando na garantia das “5 liberdades” (FAO and IDF, 2011). Assim, os animais devem estar:

- Livres da fome e sede, providenciando pronto acesso a água e comida adequados à espécie;
- Livres de desconforto, providenciando um ambiente adequado, incluindo abrigo e uma área de descanso confortável;
- Livres de dor, lesões ou doença, através da prevenção ou pronto diagnóstico e tratamento;
- Liberdade para expressar os seus comportamentos normais, providenciando espaço suficiente, e companhia de animais da sua espécie;
- Livres de medo e aflição, assegurando condições e tratamento que evitem sofrimento mental.

Numa exploração bem gerida é possível garantir todas estas liberdades através de boas técnicas de manejo e alimentação. Quando isto não é possível, as consequências mais importantes nas explorações estão relacionadas com a ocorrência de doenças, principalmente com claudicações e mastites (Algers et al., 2009). O bem-estar animal não é, no entanto, apenas influenciado pelas medidas tomadas no dia-a-dia, sendo que as decisões formadas a longo prazo, são também muito importantes.

A produção de leite de origem bovina aumentou, progressivamente, ao longo dos últimos 30 anos na Europa, sendo que metade deste aumento é atribuível à selecção genética com ênfase para a elevada produção de leite (De Vliegher, et al., 2012) (Gráfico 1). Esta selecção genética é o principal factor que condiciona negativamente o bem-estar das vacas leiteiras, especialmente por ser fonte de problemas de saúde nos animais. Está também associada a mudanças na forma e tamanho dos animais e, consequentemente, alterações no seu comportamento e outros mecanismos adaptativos, bem como a sua vulnerabilidade a impactos mecânicos e feridas na pele, membros e úngulas. Foi ainda encontrada uma correlação positiva entre o componente genético responsável pelo aumento da produção leiteira e a incidência de claudicações, mastites, doenças reprodutivas e desordens metabólicas (Algers et al., 2009) especificamente entre a presença de úlceras e hemorragias da sola e ocorrência de mastite clínica, e entre a presença de úlceras da sola e o número de dias abertos (Buch et al., 2011).

**Gráfico 1** – Evolução dos resultados dos contrastes leiteiros em Portugal nos últimos 35 anos  
(adaptado de Martins, 2010)



Felizmente, nos últimos anos, tem-se vindo a verificar uma tendência para alteração dos programas de melhoramento genético de bovinos de leite. O foco destes programas deixou de ser apenas o aumento da produção leiteira, passando também a incorporar um conjunto mais amplo de metas, especialmente em relação ao reconhecimento da importância da selecção de touros para as características de saúde e bem-estar. Em alguns países a prática actual para a elaboração de programas de cruzamentos consiste na inclusão de características não relacionadas com a produção, com destaque para a conformação dos membros e úngulas que

normalmente, servem como indicador da longevidade dos animais (Buitenhuis et al., 2007). No Reino Unido, por exemplo, características referentes ao tempo de vida, saúde e fertilidade têm um peso relativo de cerca de 45% nos índices genéticos (Farm Animal Welfare Council, 2009).

Já existem estudos em desenvolvimento com o objectivo de calcular as heritabilidades de factores conformacionais e de saúde podal (Laursen et al., 2009; van der Linde et al., 2010). Espera-se que a sua inclusão nos índices de selecção reduza, não só, a sua incidência, como também conduza à melhoria de outras características funcionais e do “valor genético total” (Buch et al., 2011).

## **2.2. Claudicações**

A claudicação num animal deve ser encarada como um sinal clínico e não como uma doença (Greenough, 2007). Isto não deve impedir, no entanto, que cada caso de claudicação seja prontamente avaliado e tratado, incluindo sempre o controlo da dor (Algers et al., 2009).

Em relação às lesões responsáveis pelas claudicações, a maioria localiza-se nos membros posteriores (84%), o que é explicado pela distribuição do peso das vacas modernas (Amory et al., 2008). O desenvolvimento genético das raças vocacionadas para a produção de leite sempre foi focado no aumento da quantidade produzida, o que se traduziu num grande aumento do tamanho dos úberes. Esta hipertrofia não foi acompanhada por uma alteração do sistema músculo-esquelético que comportasse esse desenvolvimento. Adicionalmente, os membros posteriores comunicam com o corpo através de uma ligação rígida, ao contrário do que se observa com os anteriores (Divers & Peek, 2008). As úngulas posteriores estão mais expostas a bactérias e humidade das fezes e urina, pelo que não só o tecido córneo tende a ficar mais macio e maleável, mas também mais susceptível a infecções bacterianas (Greenough, 2007).

Observa-se ainda, uma maior quantidade de lesões nas úngulas laterais relativamente às mediais nos membros posteriores. As úngulas laterais são as primeiras a entrar em contacto com o solo durante a locomoção (Meyer et al., 2007) e nos membros posteriores, são também as que suportam mais peso, particularmente nas suas partes mais moles, como a sola e a área bulbar (van der Tol et al., 2003). Estes factores fazem com que as úngulas laterais sejam mais vulneráveis a lesões, especialmente quando a vaca está em pisos duros, onde não há possibilidade de acomodação e alteração do centro de gravidade (Meyer et al., 2007).

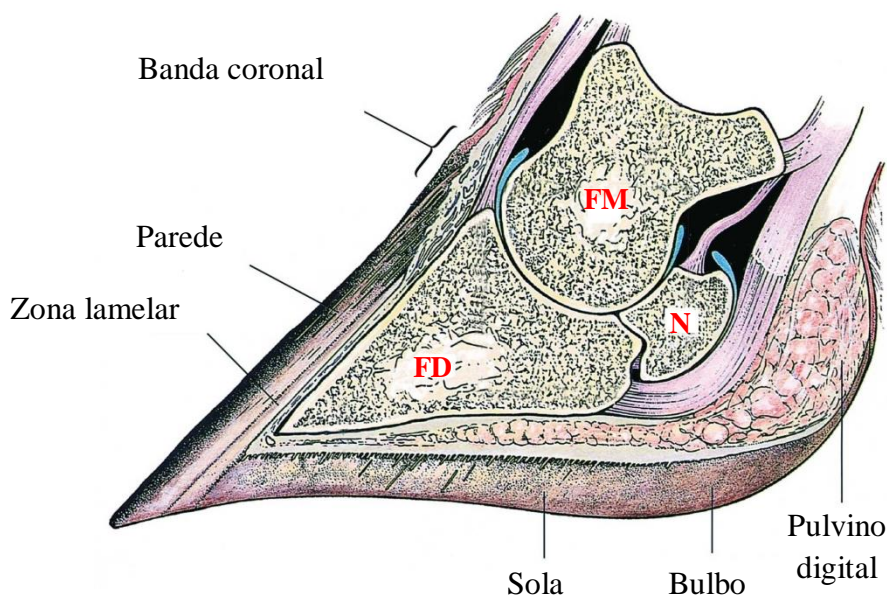
A maior parte das lesões associadas a claudicações (88,3%) estão presentes nas úngulas (Greenough, 2007). Para se compreender a razão deste número, bem como a natureza das lesões, é necessário conhecer-se, primeiro, a sua anatomia.

### 2.2.1. Anatomia da úngula

A úngula pode ser dividida em 5 zonas (Figura 2):

**Figura 2** – Desenho do corte sagital de uma úngula de bovino, revelando a sua anatomia interna (adaptado de <http://www.doctorjhoofcare.com/>).

FM – Falange medial; FD – Falange distal; N – Navicular.



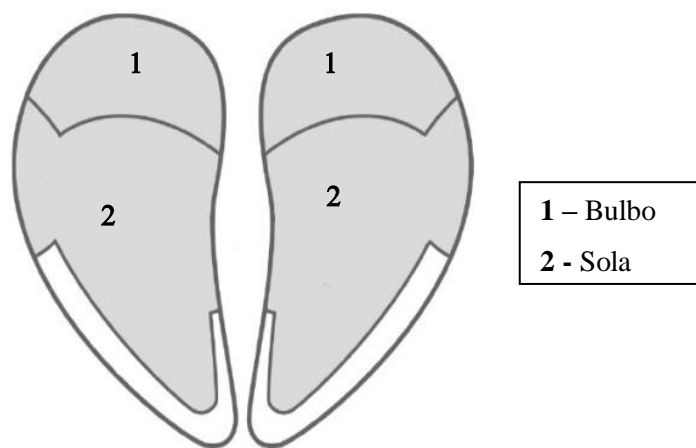
- Banda coronal, com a forma de uma faixa plana de cerca de 1,5 cm de largura, excepto nos talões, onde se alarga;
- Parede, constituída por tecido córneo, no qual existem túbulos epidérmicos paralelamente à superfície da úngula. Esta porção é produzida por células queratogénicas da epiderme que recobre as papilas dérmicas sob a banda coronal. À medida que a parede cresce é empurrada distalmente e forma a porção mais visível da úngula (Greenough, 2007);
- Zona lamelar, constituída por folhetos epidérmicos (lamelas) e dérmicos (lâminas), que se interdigitam, aumentando assim a superfície de contacto. Isto permite uma melhor difusão de nutrientes, bem como uma maior conexão mecânica e estabilidade da junção dermo-epidérmica (Greenough, 2007);
- Sola, que ocupa o ângulo de inflexão da parede e é contínua com o bulbo (Figura 3);
- Bulbo, proeminente, contínuo com a pele (Figura 3).

Caudalmente aos bulbos localizam-se as almofadas ou pulvinos digitais. Estas estruturas têm na sua constituição uma grande quantidade de tecido adiposo e auxiliam na absorção e dissipação das forças de impacto de movimento entre o processo flexor da terceira falange e

as camadas de tecido responsáveis pela produção de tecido córneo (Bicalho & Oikonomou, 2013).

Apesar da estrutura diferenciada dos segmentos mencionados, em todos está presente uma membrana basal que, para além de permitir a fixação à derme subjacente (através de fibras de colagénio), tem também a função de regular a proliferação e diferenciação das células mitóticas da epiderme. Esta regulação é realizada através de inúmeros estímulos mecânicos e químicos, incluindo factores de crescimento e citoquinas.

**Figura 3** – Esquema da extremidade distal de um membro de bovino, evidenciando a divisão entre sola e bulbo (adaptado de Greenough, 2007, pág.245)



A nutrição das células epidérmicas é feita por difusão a partir da microvascularização da derme. De facto, na derme da úngula pode-se encontrar uma grande quantidade de anastomoses arterio-venosas cuja principal função está relacionada com o controlo da temperatura, embora também se pense que servem como mecanismo de adaptação às alterações de pressão dentro da úngula, que decorrem durante a sustentação do peso. Sabe-se que o número destas anastomoses aumenta quando há uma patologia podal (Greenough, 2007).

### 2.2.2. Laminite (Coriose)

A laminite é muitas vezes uma doença sistémica que se manifesta localmente nas úngulas, e apresenta várias formas reconhecidas. Apesar de classicamente ser referida com esse nome, o termo laminite já não é considerado o mais correcto, visto as lâminas não serem necessariamente as únicas, nem as primeiras, estruturas a serem afectadas. Um termo sugerido é coriose (Scott et al., 2011).

Laminite aguda e subaguda são inflamações assépticas do córion, acompanhadas de sinais sistémicos, com engorgitamento das veias digitais e dilatação das anastomoses arteriovenosas da extremidade distal do membro (Lean et al., 2013). Em ambos os casos há sinais clínicos, que se manifestam desde claudicação ligeira e desconforto nos casos subagudos, até incapacidade de apoiar as úngulas, nos casos mais graves. No entanto, ao contrário do que sucede com a laminite subclínica, ambas formas são raras em bovinos (Bicalho & Oikonomou, 2013).

A laminite subclínica, como o nome indica, não está associada a nenhum sinal clínico, nem são observáveis alterações evidentes na locomoção ou postura. É uma condição crónica, diagnosticável apenas após o aparecimento de sequelas, tais como deficiente qualidade do tecido córneo, úlceras e hemorragias na sola e linha branca (Lean et al., 2013). A laminite subclínica é uma entidade multifactorial, e logo não pode ser associada a uma única causa. Há, no entanto, dois resultados sempre presentes: redução das microfibrilhas de colagénio, com enfraquecimento do tecido conectivo (Figura 4) e alterações na queratogénese.

Apesar de não ser associável a uma única causa, a acidose ruminal sub-aguda (SARA) é largamente reconhecida como sendo o principal factor ligado à laminite subclínica. A SARA é causa de diversos problemas, entre eles a lesão da parede ruminal com aumento da sua permeabilidade, levando à libertação de endotoxinas de organismos Gram- a partir do rúmen (Bicalho & Oikonomou, 2013). Estas endotoxinas desencadeiam a libertação de agentes biogénicos, tais como  $\text{TNF-}\alpha$ , que levam à activação de metaloproteínases de matriz (MPM). As MPM têm como função a degradação das fibras de colagénio. Quando há um aumento da sua actividade, verifica-se uma intensificação da degradação do colagénio do aparelho de sustentação do osso. São também vasoactivas, com acção directa sobre a vascularização da derme da úngula. Tarlton et al. (2002) detectaram um aumento dos níveis destas enzimas no córion da úngula, juntamente com uma diminuição do teor de colagénio, em correlação com a diminuição da resistência do tecido conector.

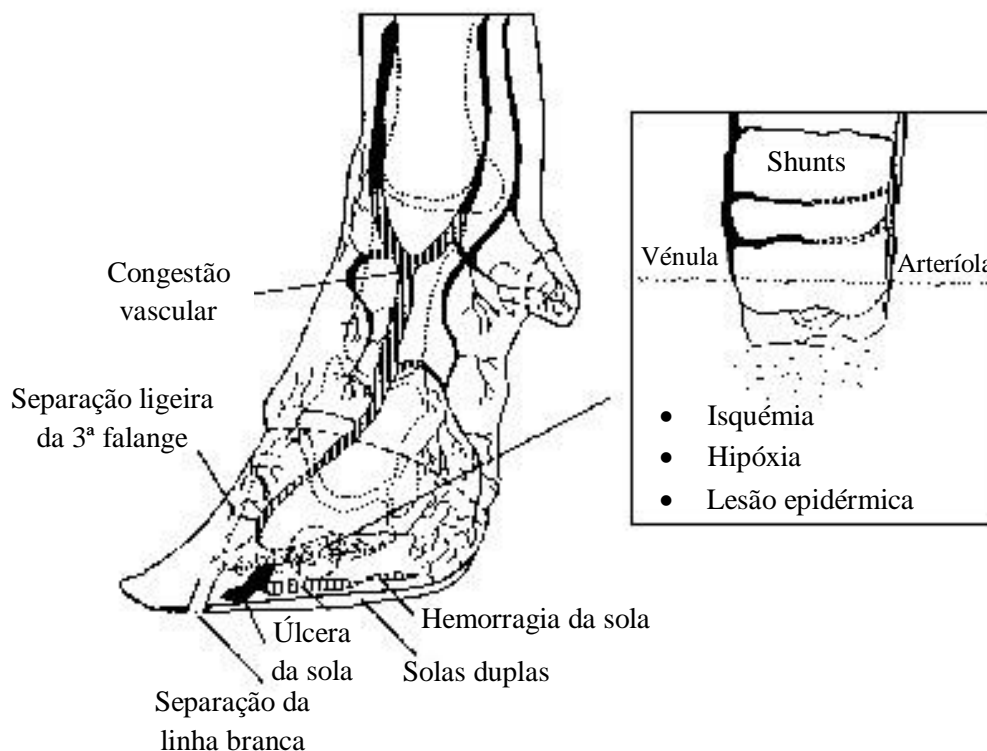
A acção de agentes vasoactivos leva também a alterações na microvasculatura da derme, podendo originar vasodilatação arteriolar, com edema e aumento da pressão intra-ungular (Figura 4). Há abertura de shunts, o que agrava a estase e causa isquémia da derme. Este



problema agrava-se devido à acção, já mencionada, das endotoxinas, do edema adicional (com aumento de pressão) e da formação de trombos (Greenough, 2007).

A redução da perfusão sanguínea do córion interfere com a produção de tecido córneo pelas células queratogénicas da epiderme. A nível do perióplo isto leva à formação de fissuras, enquanto que na sola verifica-se uma redução na sua espessura, o que propicia o desenvolvimento de lesões como úlceras ou doença da linha branca. A interrupção total da produção de tecido córneo leva à formação de “duplas solas” (Figura 4).

**Figura 4** – Estágios de laminite subclínica (adaptado de Nocek, 1996).



Embora sejam conhecidos vários dos mecanismos envolvidos na relação entre laminite e acidose, a sua patogenia em vacas de leite ainda não está completamente esclarecida nem confirmada experimentalmente. Danscher et al. (2010) tentaram investigar os efeitos de laminite aguda sobre o tecido suspensor da falange após a indução de acidose em 10 vacas. Embora tenham encontrado lesões histológicas compatíveis com laminite, não houve enfraquecimento do tecido suspensor no período de até 72h após a indução.

### 2.2.3. Outros factores predisponentes

Além da nutrição, existem outros factores que têm sido implicados na génese da laminite e claudicações em geral.

Sabe-se, por exemplo, que há uma maior prevalência de claudicações no periparto. Num estudo realizado por Tarlton et al. (2002) foi demonstrado que, por volta da altura do parto, há um aumento progressivo da laxidão dos tecidos de ligação que suportam a 3ª falange, o que permite um maior movimento deste osso e da pressão exercida sobre a sola. As alterações hormonais que ocorrem nesta altura, como os elevados níveis de estrogénio e a relaxina, estão associados com remodelação e aumento da laxidão do tecido conjuntivo (Tarlton et al., 2002), provavelmente têm influência sobre este aspecto. Durante o periparto há, ainda, um maior risco de acidose ruminal e uma imunossupressão acentuada, pelo que certas doenças como a metrite ou a mastite são mais comuns, podendo ajudar no aumento da fragilidade do córion através da libertação de endotoxinas (Lean et al., 2013).

A permanência em pé, especialmente em pisos duros ou abrasivos, também aumenta a probabilidade de ocorrência de lesões. Quando há uma sobrecarga da úngula ocorre lesão da derme, com libertação de agentes biogénicos. Neste aspecto, os períodos de espera à entrada da sala de ordenha podem ser bastante negativos, especialmente para os animais que se encontram nas últimas posições (Figura 5). Tendo em conta que os animais claudicantes movem-se mais lentamente, estes são tendencialmente os últimos a apresentar-se à ordenha (Walker et al., 2009) e forma-se um ciclo vicioso. Foi identificada uma prevalência de claudicações 11,9% superior nas vacas do último terço da ordem de entrada na sala de ordenha, quando comparados com o primeiro (Main et al., 2010).

**Figura 5** – Os tempos de espera à entrada da sala de ordenha podem ser prejudiciais para a saúde podal, especialmente para os últimos animais e em pisos duros, abrasivos ou irregulares (retirado de Greenough, 2007, pág.73).

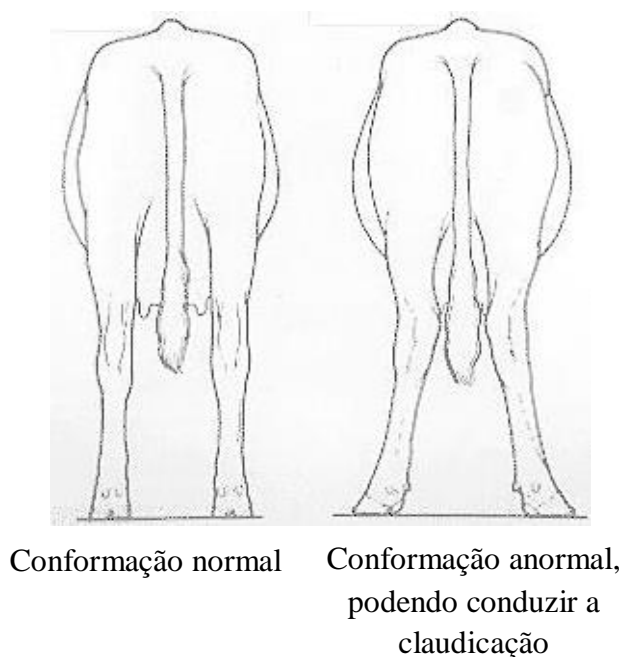


A imobilidade é ainda mais prejudicial, pois põe em causa os sistemas de bombeamento vascular que fornecem o suprimento sanguíneo ao córion, levando a uma redução da oxigenação e da taxa de remoção de toxinas. Se os animais forem obrigados a percorrer grandes distâncias ou permanecer muito tempo em pisos duros, abrasivos e/ou irregulares, especialmente em alturas de maior fragilidade, terão também uma maior incidência de claudicações (Barker et al. 2010).

Se as úngulas forem mantidas constantemente em ambientes húmidos e ácidos, haverá um amolecimento do tecido córneo e uma maior predisposição para lesões. Os próprios tratadores dos animais podem também, inadvertidamente ou negligentemente, aumentar a probabilidade da ocorrência de lesões ao apressarem a sua movimentação em caminhos potencialmente traumáticos.

A conformação dos animais, relacionada com a selecção genética é outro factor a ter em consideração (Figura 6), assim como a rotina de intervenções podais, com destaque para os cortes funcionais.

**Figura 6** – Comparação entre a postura normal de uma vaca e a de uma afectada por claudicação nos membros posteriores (adaptado de University of Pennsylvania School of Veterinary, disponível em <http://cal.vet.upenn.edu>)



#### 2.2.4. Cortes funcionais

Para a melhoria da saúde podal é essencial a realização rotineira de cortes funcionais por alguém com experiência, visto que uma má técnica pode ter efeitos negativos.

Os cortes funcionais permitem o alívio da dor causado pelo sobrecrecimento da úngula. A remoção do tecido córneo antigo estimula também a produção de novas camadas saudáveis e resistentes, para além de que as novas superfícies expostas fornecem uma maior fricção e contribuem para a sensação de estabilidade e bem-estar do animal (Greenough, 2007). Os objectivos passam, portanto, pelo fornecimento de estabilidade lateral e longitudinal aos dígitos, através do re-estabelecimento do equilíbrio do suporte de peso entre os dois e da distribuição uniforme do peso ao longo dos mesmos (Meyer et al., 2007).

#### 2.2.5. Úlceras da sola

Estas lesões surgem como consequência da destruição de porções das camadas do tecido responsáveis pela produção de tecido córneo. Na área danificada pela pressão passa a haver uma descontinuação da produção de tecido córneo, circunscrita a uma pequena zona. Nesse local começa a desenvolver-se tecido de granulação com protusão (Scott et al., 2011).

A laminite subclínica está bastante relacionada com úlceras da sola, pois é causa de produção de tecido córneo com qualidade inferior à normal, que se gasta mais rapidamente. A sola torna-se, consequentemente, mais fina e propensa a lesões traumáticas. Adicionalmente, há destruição da suspensão laminar da falange distal no interior do estojo córneo, com rotação do osso e aumento da pressão sobre a sola, causando lesões, hemorragia e dor (Greenough, 2007). Quando os animais estão em pisos duros, ou seja, quando as forças externas são mais intensas, estas lesões podem evoluir para úlceras da sola (Figura 7). O edema e distorção das lâminas e do córion levam a um aumento da pressão sobre a parede, predispondo ainda à separação da linha branca (Tarlton et al., 2002).

**Figura 7** – Úlcera da sola (fotografia original).



A espessura das almofadas digitais também está relacionada com estas afecções, na medida em que a sua diminuição causa uma menor capacidade de amortecimento da pressão exercida pela terceira falange nos tecidos subjacentes (Bicalho et al., 2009). Esta explicação tem-se tornado mais popular e alvo recente de estudo (Räber et al., 2006; Bicalho et al., 2009).

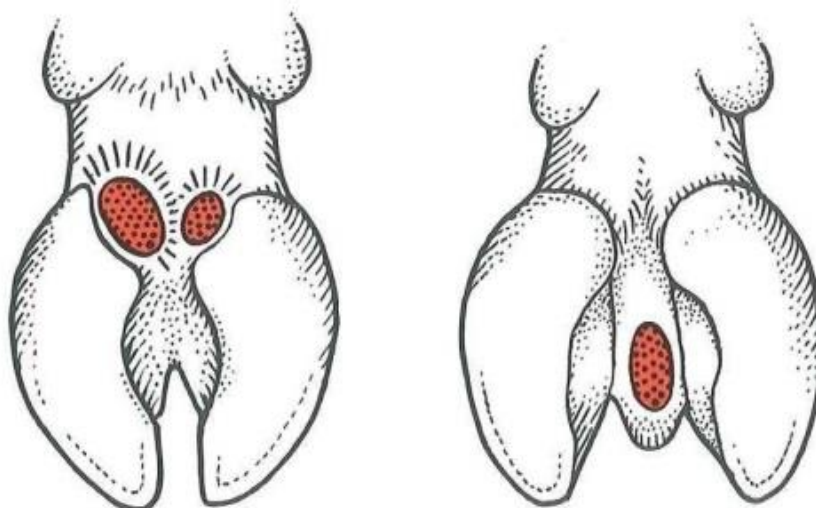
As úlceras da sola são um achado comum em úngulas com sobrecrecimento pois, nestes casos, a deformação presente leva a uma alteração do padrão de suporte do peso, com compressão da superfície interna da sola por parte do processo flexor da terceira falange.

A génese de úlceras podais pode ainda ser de origem iatrogénica, devido à inexperiência do responsável pelos cortes funcionais das úngulas (Greenough, 2007).

#### 2.2.6. Dermatite digital

Corresponde à inflamação da pele, normalmente localizada no espaço entre os dígitos acessórios e a fenda bulbar, podendo no entanto estender-se ao espaço interdigital (Figura 8 e 9), ou aos próprios bulbos e em casos graves é causa de claudicação grave.

**Figura 8** – Localizações comuns de lesões de dermatite digital  
(retirado de <http://www.veehof.co.nz/>).



A patogénese exacta da doença tem sido alvo de estudo e de bastante discussão, embora dois géneros de espiroquetas, *Borrelia spp.* e *Treponema spp.*, sejam consistentemente isolados das lesões. As espiroquetas proliferam nas membranas basais da epiderme, causando a sua erosão e consequente destruição, bem como estimulam a proliferação celular acelerada, levando à produção de papilas características desta doença (Figura 9).

Diversos outros microorganismos são esporadicamente isolados das lesões, tais como *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides capillosis*, *Corynebacterium pseudotuberculosis* e, principalmente, *Dichelobacter nodosus*. Pensa-se que este último possa ter uma acção sinérgica com as espiroquetas.

**Figura 9** – Lesão típica de dermatite digital  
(retirado de [www.progressivedairy.com](http://www.progressivedairy.com)).



As más condições de higiene e manejo, principalmente relacionadas com o excesso de população e remoção inadequada de fezes e urina dos corredores e camas, aumentam a exposição da pele digital à matéria orgânica húmida contendo estes microorganismos, e logo predispõem à destruição da camada superficial da derme, permitindo uma degradação bacteriana adicional e penetração de espiroquetas (Wells et al., 1999).

Pode haver, também, um componente genético responsável por uma menor resistência da barreira epidérmica, para além de que carências nutricionais, alterações imunitárias locais ou lesões traumáticas podem ter o mesmo efeito. Os animais jovens ou recém importados para a exploração, são normalmente os mais susceptíveis.



### 2.2.7. Fissuras

Sabe-se que existe uma forte correlação entre o peso dos animais e a ocorrência de fissuras verticais, pelo que são mais comuns em vacas adultas. As fissuras verticais, por si, raramente são causa de claudicação. Este tipo de fissura pode ser consequência de uma deterioração localizada do periópelo e da banda coronária (Scott et al., 2011). No local da lesão, devido à interrupção da formação de tecido córneo, inicia-se a formação de uma fenda que se estende pela parte inferior da parede da úngula (Figura 10). Estas fissuras podem também ser o resultado de dermatite digital infecciosa na banda coronária (Scott et al., 2011).

**Figura 10** – Úngula apresentando fissura vertical  
(retirado de <http://www.merckmanuals.com>).



As fissuras horizontais, ao contrário das anteriores, podem ser causa de claudicação de grau variável, pois à medida que a fissura se estende no sentido distal, pode haver perda de suporte e fixação, pinçamento, dor e claudicação. Estas formam-se quando há uma interrupção completa da formação de tecido córneo (Figura 11), o que normalmente está associado a infecções como metrites ou mastites, ou distúrbios tóxicos (Scott et al., 2011).

**Figura 11** – Vaca com fissuras horizontais em pelo menos duas úngulas (retirado de <http://www.mgar.com.br>).



As fissuras podem também estender-se obliquamente ao longo da parede axial, sendo que, devido à sua localização, são mais difíceis de detectar e tratar. Pensa-se que na sua génese estão envolvidas condições de humidade e acidez afectando a resistência da úngula, bem como dermatite localizada na banda coronária do espaço interdigital.

#### 2.2.8. Consequências de claudicações

Num estudo realizado por Green et al. (2002) foi observado que vacas com claudicação clínica tiveram uma redução na produção de leite desde 4 meses antes da claudicação ter sido diagnosticada e tratada, até 5 meses após a mesma. Houve também uma diminuição na média na produção de leite de 360 kg por lactação.

Hultgren et al. (2004) encontraram uma relação significativa entre a presença de úlceras da sola (independentemente da observação do animal em claudicação) e uma diminuição da performance reprodutiva, mais especificamente uma menor taxa de concepção ao primeiro serviço e aumento do intervalo entre partos. Neste estudo foi também observada uma maior incidência de úlceras da sola nos animais com maiores produções.

No estudo de Amory et al. (2008) foi identificada uma perda média, por lactação, de 570 kg em animais com úlceras da sola e de 370 kg em animais com doença da linha branca, não tendo sido observadas diminuições na produção de leite em animais com dermatite digital.

Onyiro et al. (2008) relataram uma queda na produção de 0,78 kg por dia em vacas com grau de claudicação 4.

Walker et al. (2009) verificaram que as vacas claudicantes apresentam uma expressão reduzida de comportamento éstrico.

Um estudo realizado por Archer et al. (2010) identificou também uma diminuição na produção leiteira em vacas com claudicação, mas apenas após 4 meses desde a primeira observação da ocorrência. Neste estudo, as perdas observadas na produção chegaram aos 1,55 kg de leite/dia (nos 8 meses após início da claudicação) e, em animais que ficaram gravemente claudicantes no primeiro mês de lactação, houve uma redução de 350 kg na produção a 305 dias.



### 2.3. Contagem de células somáticas (CCS)

Como anteriormente referido, este trabalho tem como objectivo estudar a existência de uma eventual relação entre a ocorrência, tipo e gravidade de claudicações/lesões podais e o nível de CCS.

A CCS é uma medida do número total de células presentes no leite e é o parâmetro mais amplamente utilizado como indicador de inflamação mamária (normalmente mastite), tanto a nível individual como a nível de rebanho. Actualmente essa contagem é efectuada com recurso por aparelhos automáticos directos, baseados na contagem directa electrónica ou indirectamente, com recurso a técnicas de citometria de fluxo (Moon et al., 2007 - Figura 12).

Considera-se classicamente que numa glândula mamária normal a população celular é predominantemente constituída por macrófagos que, juntamente com os polimorfonucleares neutrófilos (PMN) e células epiteliais de descamação (especialmente no período inicial da lactação), constituem a grande maioria de células somáticas presentes no leite (Harmon, 1994). Os linfócitos também estão presentes, embora em menor quantidade. Estudo recentes dizem, no entanto, que em animais saudáveis com CCS muito baixas, a população celular predominante são os linfócitos, com proporções médias entre os 58 e 63%, sendo estes valores inversamente proporcionais à CCS. A proporção média

de macrófagos situa-se, nestes animais, entre os 22 e 24% e a de PMN entre os 15 e 17%, embora estes sejam, em alguns casos, a população celular predominante, mesmo com CCS baixas, o que pode ser um indício uma fase inicial de inflamação (Schwarz et al., 2011). Quando esta ocorre, há uma grande chamada de PMN, que passam a constituir a população celular predominante (The National Mastitis Council, 2005). Os PMN trabalham em conjunto com os mecanismos de defesa do canal do teto para aprisionar e destruir as bactérias antes que estas possam infectar o tecido glandular. Como os neutrófilos apresentam uma deficiência relativa de acção no leite, quando em comparação com o sangue (falta de opsoninas, de fonte de energia e interferência da caseína e gordura na fagocitose) (Harmon, 1994), é necessário um grande número destas células para haver uma resposta eficaz à infecção bacteriana.

Assim sendo, um aumento da CCS é essencialmente explicado pela presença de infecção (mastite). Os efeitos de factores não-infecciosos, como o estágio de lactação, idade, estação

**Figura 12** – Contador automático de células somáticas (retirado de [www.delaval.com](http://www.delaval.com)).



do ano ou stress têm pouca influência no valor da CCS, caso não haja infecção (Laevens et al., 1997; Schepers, et al., 1997; The National Mastitis Council, 2005).

## **2.4. Outros mecanismos de defesa do úbere**

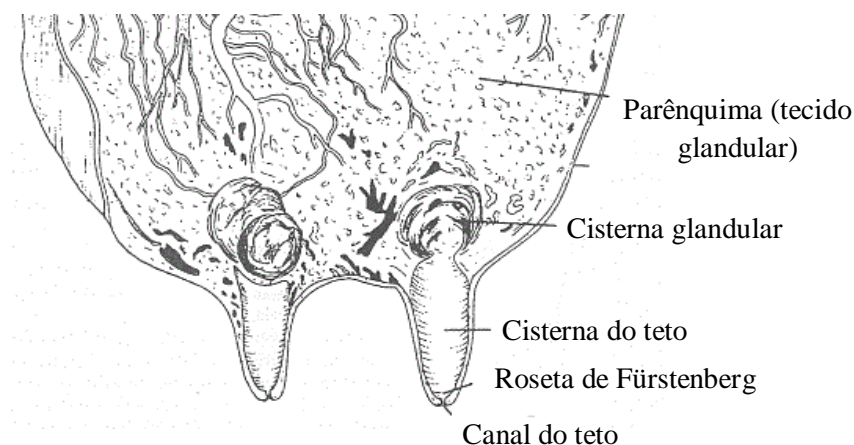
Os mecanismos celulares acima referidos são uma parte importante do sistema natural de defesa do úbere embora não sejam os únicos a entrar em acção em caso de infecção por agentes patogénicos.

### **2.4.1. Barreiras físicas**

A pele que reveste o úbere e os tetos pode ser considerada a primeira linha de defesa, impedindo a entrada de microorganismos, pelo que qualquer lesão que comprometa a sua integridade pode propiciar infecções (Scott et al., 2011).

O canal do teto, recoberto por um epitélio queratinizado, também constitui uma barreira natural à progressão de microorganismos (Figura 13). A queratina aí presente funciona não só como uma barreira física, aprisionando as bactérias, como também é capaz de inibir o seu desenvolvimento, através de um sistema químico de defesa constituído por lípidos e proteínas com características antimicrobianas. A contracção do esfíncter permite manter seladas as bactérias aí aprisionadas, sendo posteriormente eliminadas durante a ordenha graças à descamação da queratina. A descamação da queratina leva à formação de um rolhão, que durante o período seco funciona como uma barreira física à entrada de microorganismos no úbere.

**Figura 13** – Anatomia interna do úbere (adaptado de Frandson, 2002).



Qualquer causa de diminuição da espessura da camada de queratina, bem como de diminuição do tónus muscular do esfíncter pode predispor à ocorrência de mastites.

A maior susceptibilidade do úbere a novas infecções durante o início do período seco pode também ser explicada pelo facto de, nessa altura, ainda não se ter formado um novo rolhão de queratina (Divers & Peek, 2008).

A ordenha normal auxilia também na defesa do úbere, pois leva à remoção de bactérias com o leite, dificultando a sua colonização (Scott et al., 2011).

#### 2.4.2. Anticorpos

Em relação à defesa do úbere, os anticorpos actuam auxiliando a opsonização das bactérias. As IgG são as imunoglobulinas encontradas em maior quantidade no leite e são transferidas para o úbere nas semanas anteriores ao parto de modo a serem concentradas no colostro, mantendo-se elevadas durante resto da lactação (Divers & Peek, 2008).

#### 2.4.3. Lactoferrina

Verifica-se um grande aumento desta enzima no úbere de vacas saudáveis durante o período seco, o que ajuda a prevenir novas infecções intramamárias nessa altura (Scott et al., 2011).

A lactoferrina tem um efeito bacteriostático, visto que, na presença de bicarbonato actua como um quelante do ferro, reduzindo a sua disponibilidade para algumas bactérias, particularmente coliformes e a maioria dos *Staphylococcus* (Divers & Peek, 2008). Esta enzima também actua através de um mecanismo independente do ferro, que resulta da sua interacção directa com a superfície celular bacteriana, particularmente com certas espécies de *Staphylococcus*. Adicionalmente, a lactoferrina actua como quelante de catiões, causando lesão da membrana bacteriana e alteração da sua permeabilidade, com libertação de lipopolisacarídeos (LPS) em bactérias Gram negativas, como *E.coli*. Esta enzima também inibe a formação de biofilmes por *Pseudomonas aeruginosa* (Jenssen & Hancock, 2009).

#### 2.4.4. Lisozima

Esta enzima cataliza a hidrólise de ligações glicosídicas  $\beta$ -(1-4) entre o ácido N-acetilmuramico e N-acetilglucosamina, presentes nos peptidoglicanos, os principais constituintes das paredes bacterianas. A lisozima está presente nos grânulos fagocíticos e secretórios de neutrófilos, além de ser produzida pelos monócitos, macrófagos e células epiteliais (Vanderkelen et al., 2012). A lisozima tem ainda uma acção sinérgica com a lactoferrina (Jenssen & Hancock, 2009).

#### 2.4.5. Lactoperoxidase

A concentração desta enzima no colostro é baixa, embora aumente rapidamente no pós-parto, tornando-se uma das mais abundantes no leite (Kussendrager & van Hooijdonk, 2000). A lactoperoxidase é produzida pelas células epiteliais da glândula mamária (Divers & Peek, 2008), catalisa a peroxidação de tiocianato e alguns hálidos para produzir radicais livres que induzem danos nas membranas, destruindo ou inibindo o crescimento de várias espécies de microorganismos.

As bactérias Gram negativas, como coliformes ou pseudomonas, não só são inibidas na presença de lactoperoxidase, como podem mesmo ser destruídas, dependendo do meio. Nas bactérias Gram positivas têm apenas um efeito bacteriostático (Kussendrager & van Hooijdonk, 2000; Scott et al., 2011).

#### 2.5. Mastite

A mastite é uma doença multifactorial, associada à presença de determinados microorganismos patogénicos. O conjunto destes agentes é bastante extenso, pelo que a sua divisão em grupos facilita a sua enumeração e descrição. A classificação com base na sua adaptação ao úbere e forma de infecção permite, de um modo geral, dividir as mastites em contagiosas, causadas por agentes transmitidos de vaca a vaca, ou ambientais, devidas a microrganismos infectantes presentes no ambiente (Huijps et al., 2010).

Os agentes contagiosos podem ser, geralmente, encontrados no úbere ou na pele dos tetos. O contágio dá-se através dos procedimentos de ordenha, durante os quais os microorganismos podem ser transferidos para o interior dos tetos a partir da máquina de ordenha e mãos dos ordenhadores. A maioria dos agentes contagiosos conduz ao desenvolvimento de infecção nos primeiros dois meses de lactação e são capazes de causar mastites subclínicas, resultando na diminuição da produção e avultadas perdas económicas. Dentro deste grupo, os agentes mais comuns são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Mycoplasma spp.* (Zadoks & Fitzpatrick, 2009) e *Corynebacterium bovis*.

Os agentes ambientais, como o nome indica, sobrevivem no meio ambiente da vaca. As fontes de infecção incluem as camas, o solo, estrume e outros materiais orgânicos (Hogan & Smith, 2003). Estes agentes podem entrar no canal do teto durante a ordenha, por propulsão ou devido a tratamentos veterinários, ou imediatamente após a mesma, por penetração passiva. A sua presença e multiplicação estão, portanto, ligadas ao manejo e higiene, tanto da própria ordenha, como das camas e parques. Os principais agentes ambientais são *Escherichia coli* e Gram negativos em geral, *Streptococcus uberis*, Staphylococcus coagulase-negativos (SCN) e *Streptococcus dysgalactiae* (Zadoks & Fitzpatrick, 2009).

Actualmente esta distinção não é tão clara, devido à realização de estudos nos quais se descobriu que alguns agentes tradicionalmente considerados ambientais (por exemplo, *E. Coli* e *Strep. uberis*) são capazes de persistir numa forma crónica recorrente, adaptada ao portador, bem como certas bactérias tradicionalmente definidas como contagiosas (*Strep. dysgalactiae*, por exemplo) conseguem persistir no meio ambiente (Scott et al., 2011).

Assim, hoje em dia é comum classificar-se os agentes causadores de mastites em agentes patogénicos “maiores” e “menores”, em função do seu impacto na saúde do úbere, tendo como base os sinais clínicos, CCS e taxas de cura após tratamento.

Os agentes patogénicos maiores causam frequentemente episódios de mastite clínica, com danos resultantes no úbere e acompanhados de inflamação extensa, detectável pelo aumento da CCS. Neste grupo estão incluídos o *Staph. aureus*, *E. Coli* e outros Gram negativos, *Strep. uberis*, *Strep. dysgalactiae* (Reyher et al., 2012), *Strep. agalactiae*, *Mycoplasma spp.* e *Trueperella pyogenes*. Os agentes patogénicos menores causam, alternativamente, reacções muito menos graves e incluem os SCN e *Coryne. bovis* (Reyher et al., 2012).

#### 2.5.1. Agentes patogénicos maiores

##### *Staph. aureus*

Este agente é uma das causas mais comuns de mastite em diferentes partes do mundo (Behiry et al., 2012) e o seu principal reservatório é o úbere, embora também possa persistir na pele do teto (Zadoks & Fitzpatrick, 2009). É um agente de mastites contagiosas, sendo que a infecção é mais comum durante a ordenha (Behiry et al., 2012) através do equipamento ou das mãos dos ordenhadores (Divers & Peek, 2008), embora as moscas também possam servir como vector de transmissão do agente (Zadoks & Fitzpatrick, 2009).

A infecção subclínica é a mais frequente (Behiry et al., 2012), com sinais ligeiros e inespecíficos, embora a forma aguda também seja comum, com episódios de febre, redução de apetite e aumento da temperatura e tamanho dos quartos afectados (Divers & Peek, 2008). Existe ainda uma forma mais grave, a forma gangrenosa, mais comum no período pós-parto e caracterizada por sinais sistémicos de toxémia, seguidos de necrose extensiva dos tecidos (Scott et al., 2011) (Figura 14). A infecção crónica é a que resulta nas maiores perdas económicas (Syring et al., 2012), sendo que nestes casos a glândula afectada sofre danos permanentes, com fibrose extensa do úbere e formação de microabcessos (Divers & Peek, 2008; Scott et al., 2011).

### Coliformes e outros Gram negativos

As bactérias Gram negativas são consideradas agentes ambientais de mastites e são as mais frequentemente isoladas em casos agudos de doença.

*E. Coli*, *Klebsiella* sp. e *Enterobacter* sp. são os agentes coliformes responsáveis por mastites. Os restantes Gram negativos isolados frequentemente a partir de infecções intramamárias incluem *Serratia* spp., *Proteus* spp. e *Pseudomonas* spp. (Hogan & Smith, 2003).

**Figura 14** – Mastite gangrenosa afectando o quarto posterior direito, causado por *Staph. aureus* (retirado de Divers & Peek, 2008, pág.361).



### Coliformes

A mastite causada por coliformes é um exemplo clássico de mastite ambiental (Zadoks & Fitzpatrick, 2009). Estes organismos estão presentes em grandes quantidades na matéria fecal, pelo que todas as medidas de higiene e manejo que permitam a sua acumulação, levam à proliferação destas bactérias e ao aumento da incidência deste problema (Divers & Peek, 2008) (Figura 15).

O calor de Verão ou condições de grande humidade contribuem para a sua multiplicação e persistência no ambiente (Hogan & Smith, 2003). Assim, o material utilizado nas camas tem uma grande importância neste aspecto, sendo a areia geralmente

**Figura 15** – As camas de palha mantidas em más condições de higiene propiciam a ocorrência de mastite por coliformes devido ao contacto dos tetos com matéria fecal (retirado de Scott et al., 2011, pág.217).





considerada o material ideal (Cook et al., 2008) pois, com a gestão adequada, permite reduzir a exposição dos tetos à matéria fecal. Problemas na ordenha também permitem o desenvolvimento da doença, especificamente a má lavagem e/ou secagem dos tetos, ou problemas relacionados com a máquina de ordenha, tais como a nível do vácuo. Lesões no teto também predispõem à sua colonização por estas bactérias (Dingwell et al., 2004).

No período pós-parto as vacas estão também em maior risco de desenvolverem mastite por coliformes (Hogan & Smith, 2003) e certas doenças metabólicas típicas deste período, tais como a hipocalcémia, causam um aumento do tempo passado deitado, o que permite uma maior exposição a estes agentes ambientais.

A mastite por coliformes pode originar vários quadros clínicos diferentes. A infecção aguda é comum (Zadoks & Fitzpatrick, 2009) e causa sinais sistémicos graves, como febre, depressão, anorexia, aumento do tempo passado deitado, diarreia e desidratação. Os quartos afectados tornam-se quentes e aumentados, produzindo uma secreção aquosa, por vezes com aspecto de urina, (Figura 16) e muitas vezes este quadro clínico pode revelar-se fatal.

**Figura 16** – Leite anormal e úbere inflamado devido a mastite por E.Coli (retirado de Scott et al., 2011, pág.220).



As formas clínica sub-aguda e subclínica são as mais comuns (Hogan & Smith, 2003) e semelhantes às causadas por outros microrganismos, com aumento da CCS. Em algumas ocorrências, a infecção pode tornar-se crónica e, nestes casos, os quartos afectados podem tornar-se não produtivos ou apresentar mastite subclínica com episódios clínicos intermitentes (Divers & Peek, 2008).

#### Outros microorganismos Gram negativos

A mastite causada por *Pseudomonas sp.* tem sido associada à utilização de águas contaminadas e é caracterizada por ser aguda, necrotizante e endotóxica, com secreção serosa ou tingida de sangue, frequentemente com coágulos. A infecção crónica também é possível e surtos na exploração levam a aumentos na CCS.

A mastite causada pelo género *Serratia sp.*, mais especificamente por *Serratia liquefaciens* ou *Serratia marcescens* pode ser subclínica ou clínica, sem sinais específicos (Divers & Peek, 2008).

#### *Mycoplasma spp.*

A espécie mais frequentemente identificada em caso de mastites é o *Mycoplasma bovis* (Punyapornwithaya et al., 2012), embora várias outras espécies tenham sido isoladas, com destaque para o *Mycoplasma californicum* (Scott et al., 2011). O *M. bovis* pode ser encontrado nas membranas mucosas e secreções dos aparelhos respiratório e urogenital e a sua introdução numa exploração está geralmente relacionada com a entrada de novos animais infectados, ou alternativamente, de um modo espontâneo após a contaminação mecânica através dos ordenhadores (Divers & Peek, 2008).

O aparecimento da mastite é geralmente agudo e repentino, afectando com frequência dois ou mais quartos. Quando isto acontece, o úbere e linfonodos locais tornam-se duros, quentes e inchados e o leite pode ter um aspecto anormal variável (Figura 17). Por vezes a mastite não é acompanhada por sinais sistémicos, embora não seja raro este agente causar doença respiratória, otites, problemas reprodutivos e, principalmente, poliartrite. A produção leiteira desce drasticamente em casos agudos, mas não em subclínicos. O *M. bovis* é um agente extremamente contagioso, que se dissemina rapidamente nos efectivos (Scott et al., 2011).

**Figura 17** – Secreção anormal do úbere devido a infecção por *M. bovis* (retirado de Scott et al., 2011, pág.219).





### *Strep. uberis*

Este organismo é ubiqüitário na exploração, estando presente na pele, mucosas, saliva, secreções nasais, camas e fezes (Divers & Peek, 2008). Esta forma de mastite é mais comum em vacas multíparas e a transmissão ocorre, principalmente, quando os animais se deitam e os seus tetos entram em contacto com o agente, especialmente em camas de palha. A existência de lesões no teto, bem como a sua má limpeza e preparação antes da ordenha predis põem à infecção (Dingwell et al., 2004). Os sinais clínicos podem variar, desde a forma subclínica, mais comum, com aumento da CCS, até à forma aguda, caracterizada por sinais inespecíficos, como o úbere quente, inchado e doloroso, febre e inapetência. A secreção tende a ter coágulos e a ser mais aquosa que o normal (Divers & Peek, 2008).

### *Strep. dysgalactiae*

Este microorganismo, devido à sua forma de infecção, pode ser incluído no grupo de agentes responsáveis por mastites contagiosas. Por outro lado, pode também ser considerado um agente de mastites ambientais, visto conseguir sobreviver no meio ambiente e causar novas infecções. Estas são mais comuns no período seco ou peri-parto, normalmente clínicas com sinais inespecíficos e cuja transmissão é maior em caso de lesões nos tetos ou falta de higiene da ordenha (Divers & Peek, 2008).

### *Strep. agalactiae*

Embora seja um agente patogénico obrigatório da glândula mamária, é altamente contagioso devido a processos incorrectos de ordenha (Divers & Peek, 2008). Normalmente causa mastite subclínica sem sinais sistémicos (Zadoks & Fitzpatrick, 2009), acompanhada de um grande aumento da CCS, levando a elevadas perdas económicas. Não causa formação de abscessos, embora reduza permanentemente a produção nos quartos afectados por infecções crónicas (Divers & Peek, 2008).

### *Trueperella pyogenes*

A secreção ou conteúdo da glândula mamária infectada por este agente é extremamente purulento, sendo que a maioria das novas infecções ocorre durante o período seco e aumenta na presença de ambientes pouco higiénicos. As moscas funcionam frequentemente como vector de transmissão (Mastite de Verão).

A infecção aguda causa febre e inapetência, bem como dor, aumento de tamanho e de consistência dos quartos afectados. As secreções tornam-se viscosas e em casos crónicos pode

haver surgimento de abscessos, com conteúdo de cheiro característico. A maioria dos quartos mamários afectados pela forma crónica tornam-se improdutivos (Divers & Peek, 2008).

#### 2.5.2. Agentes patogénicos menores

##### *Staphylococcus coagulase-negativos (SCN)*

Os SCN fazem parte da flora normal da pele dos tetos e o seu número aumenta sempre que há alguma lesão ou irritação local (Divers & Peek, 2008). Este grupo de agentes tem sido cada vez mais frequentemente isolado em casos de mastite em todo o mundo, não sendo tão patogénicos quanto os agentes maiores. As doenças que causam são geralmente subclínicas ou ligeiras (Pyörälä & Taponen, 2009) podendo, no entanto, causar infecções persistentes, que resultam no aumento moderado da CCS (Schukken et al., 2009) e diminuição da qualidade do leite. Actualmente ainda não é conhecido se actuam como agentes ambientais ou contagiosos. A sua prevalência é superior em vacas primíparas, que normalmente desenvolvem infecção antes ou imediatamente após o parto, principalmente por *Staphylococcus chromogenes*. As vacas múltíparas geralmente são infectadas em fases posteriores da lactação, sendo que nestas o agente isolado com mais frequência é o *Staphylococcus simulans* (Pyörälä & Taponen, 2009).

##### *Corynebacterium bovis*

Esta bactéria pode ser a única isolada em caso de infecção (Divers & Peek, 2008) levando a um aumento moderado da CCS (Schukken et al., 2009), com perdas mínimas ou mesmo nulas na produção de leite (Reyher et al., 2012).

#### 2.5.3. Consequências das mastites

O leite de vacas com mastite subclínica não apresenta alterações visíveis, mas causa diminuição da produção e da qualidade do leite (De Vliegher et al., 2012), independentemente da causa. O preço pago ao produtor baseia-se num valor numérico que pondera a CCS e/ou contagem bacteriana. Uma incidência elevada de mastites numa exploração leva a um aumento da CCS, resultando em grandes penalizações financeiras para o produtor.

Na União Europeia, o valor máximo de células somáticas em leite de vaca permitido por lei é de 400.000 cel./mL, sendo esse valor obtido por “*média geométrica constatada ao longo de um período de três meses, com, pelo menos, uma colheita mensal, a não ser que a autoridade competente especifique outra metodologia para atender às variações sazonais nos níveis de produção*” (Regulamento (CE) n.º 853/2004 de 29 de Abril de 2004. Jornal Oficial da União Europeia L 226/22. Parlamento Europeu e do Conselho). Muitas empresas de lacticínios

penalizam financeiramente os produtores com contagens a partir das 300.000 cel./mL ou mesmo 200.000 cel./mL. Em média a CCS aumentou 30% desde 1998, provavelmente porque a incidência de mastites sub-clínicas tem aumentado nos últimos 15 anos (Farm Animal Welfare Council, 2009).

Na mastite clínica ligeira já são observáveis alterações no leite (coágulos, farrapos, consistência anormal), especialmente detectáveis se houver o cuidado de se descartar e observar num recipiente de fundo escuro os primeiros jactos antes da ordenha. À medida que a doença aumenta de gravidade, começa-se a observar alterações a nível do úbere, tais como sinais de inflamação e dor. Nos casos mais graves, a mastite clínica é acompanhada de sinais sistémicos, que podem incluir a redução dramática da produção, inapetência, pirécia, desidratação, aumento das frequências cardíacas e respiratória e outros sinais relacionados com toxémia (Harmon, 1994).

As mastites têm ainda impacto nas contas de uma exploração devido a custos com veterinários e medicação, perdas de leite descartado após tratamentos antibióticos, aumento da mão-de-obra e refugo precoce (Viguier et al., 2009).

### **3. Material e métodos**

#### **3.1. Objectivos**

- Determinação do efeito das claudicações nos níveis de CCS de vacas leiteiras comparativamente a animais não afectados.
- Avaliação da magnitude e variação dos referidos efeitos com base no tipo e gravidade das lesões observadas.

#### **3.2. Caracterização da população**

Os dados analisados foram obtidos a partir dos registos de uma única exploração intensiva de bovinos de leite de grandes dimensões, localizada no Ribatejo e cujo efectivo é exclusivamente composto por vacas de raça Holstein-Frísia. Estes dados são referentes a 620 observações diferentes de vacas claudicantes, realizadas no período decorrido entre Janeiro de 2010 e Outubro de 2012, equivalentes a 404 ocorrências distintas em 296 animais. Durante este intervalo de tempo o número total de animais em produção variou entre as 499 e 653 vacas.

Nesta exploração os animais estão alojados em vários parques colectivos com uma lotação adequada com acesso a cubículos individuais com cama de areia, mantidas em muito bom estado de limpeza. O piso dos corredores é de cimento e a sua lavagem é realizada regularmente através de onda de água.

A alimentação é formulada e fornecida sob a forma de Total Mixed Rations (TMR) com recurso a UniFeed e a reprodução é totalmente realizada por inseminação artificial, com escolha específica de touros e sem entrada de novos animais na exploração.

A exploração conta com a presença permanente de um veterinário e as vacas são sujeitas diariamente a tratamentos podais por um responsável qualificado, sendo que duas vezes por semana todos os animais passam por um pedilúvio.

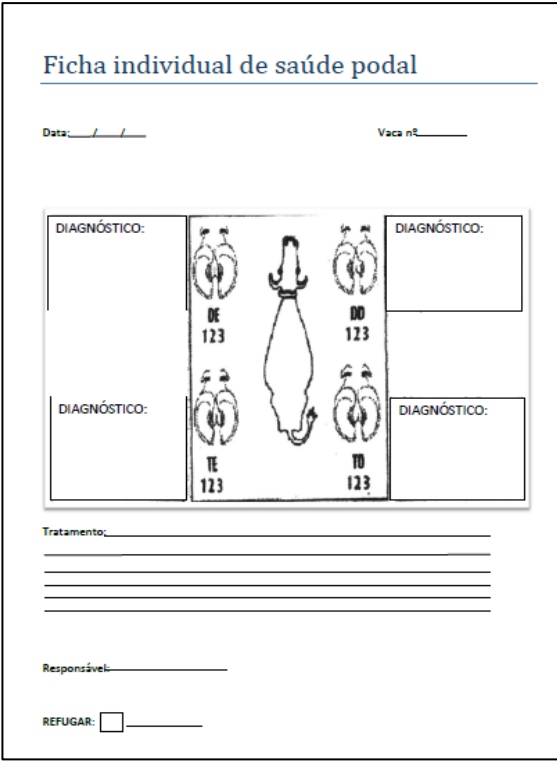
A ordenha é realizada 3 vezes por dia, com pré e pós-dipping, limpeza dos tetos com panos individuais e rejeição dos primeiros jactos. As vacas são por rotina secas por volta do sétimo mês de lactação, com utilização de antibióticos e selantes de tetos.

Existe um parque destinado a vacas com mastite, onde se encontram todos os animais que são diagnosticados, até a sua cura. Este parque é semelhante aos restantes e as vacas aí presentes são as últimas a ser ordenhadas. Todas as vacas recém-paridas ou doentes (com claudicação muito grave, por exemplo) são movidas para um parque livre de palha.

### 3.3. Recolha de dados

Todos os animais que são detectados com qualquer tipo de claudicação pelo pessoal da vacaria são identificados e registados, bem como a data na qual essa observação foi realizada, sendo este registo utilizado como base para a realização diária dos tratamentos podais necessários. Na altura destes tratamentos o responsável realiza a avaliação do tipo e gravidade da(s) lesão(ões) e documenta essa informação, juntamente com o tratamento realizado, numa ficha de avaliação individual de saúde podal (Figura 18). Esta avaliação é realizada com base na observação e experiência do técnico responsável pelos tratamentos podais.

**Figura 18** – Ficha individual de saúde podal utilizada para registo de ocorrências de claudicação.



A form titled "Ficha individual de saúde podal" (Individual hoof health form). It includes fields for "Data:" (Date) and "Vaca nº:" (Cow number). The central part features a diagram of a cow's four hooves, labeled "DE 123", "DO 123", "TE 123", and "TD 123", each with a "DIAGNÓSTICO:" (Diagnosis) box. Below the diagram are sections for "Tratamento:" (Treatment) and "Responsável:" (Responsible). At the bottom, there is a "REFUGAR:" (Refuse) checkbox and a line for a signature.

O grupo de controlo foi definido como sendo composto por todas as vacas em produção na exploração, sem qualquer observação de claudicação durante pelo menos um ano, entre Janeiro de 2009 e Fevereiro de 2013.

Relativamente às lesões encontradas, estas são definidas como úlceras (Figura 19-21), dermatite (Figura 22-24), fissuras (Figura 25-27) ou lesões múltiplas. Houve ainda animais claudicantes sem qualquer lesão observada. Quanto à gravidade, as lesões são agrupadas em 3 categorias qualitativas para cada tipo de lesão: lesões ligeiras (Figura 19, 22 e 25), moderadas (Figura 20, 23 e 26) e graves (Figura 21, 24 e 27).

Com base nestes registos foi criada uma base de dados com recurso ao Microsoft Excel Office Professional Plus 2010 (Anexos 2 e 3). Nesta estão referidas todas as ocorrências observadas, agrupadas por animal e por data. Os registos consecutivos de claudicações de um mesmo animal, com o mesmo tipo de lesão, num intervalo de tempo inferior a 4 meses foram considerados como sendo referentes à mesma ocorrência (claudicação crónica ou recorrente) e tratados como um só caso.

**Figura 19** – Úlcera da sola ligeira (fotografia original).

**Figura 20** – Úlcera da sola moderada (retirado de Greenough, 2007, pág.85).

**Figura 21** - Úlcera da sola grave (fotografia original).

**Figura 22** – Dermatite digital ligeira (retirado de Greenough, 2007, pág.208).

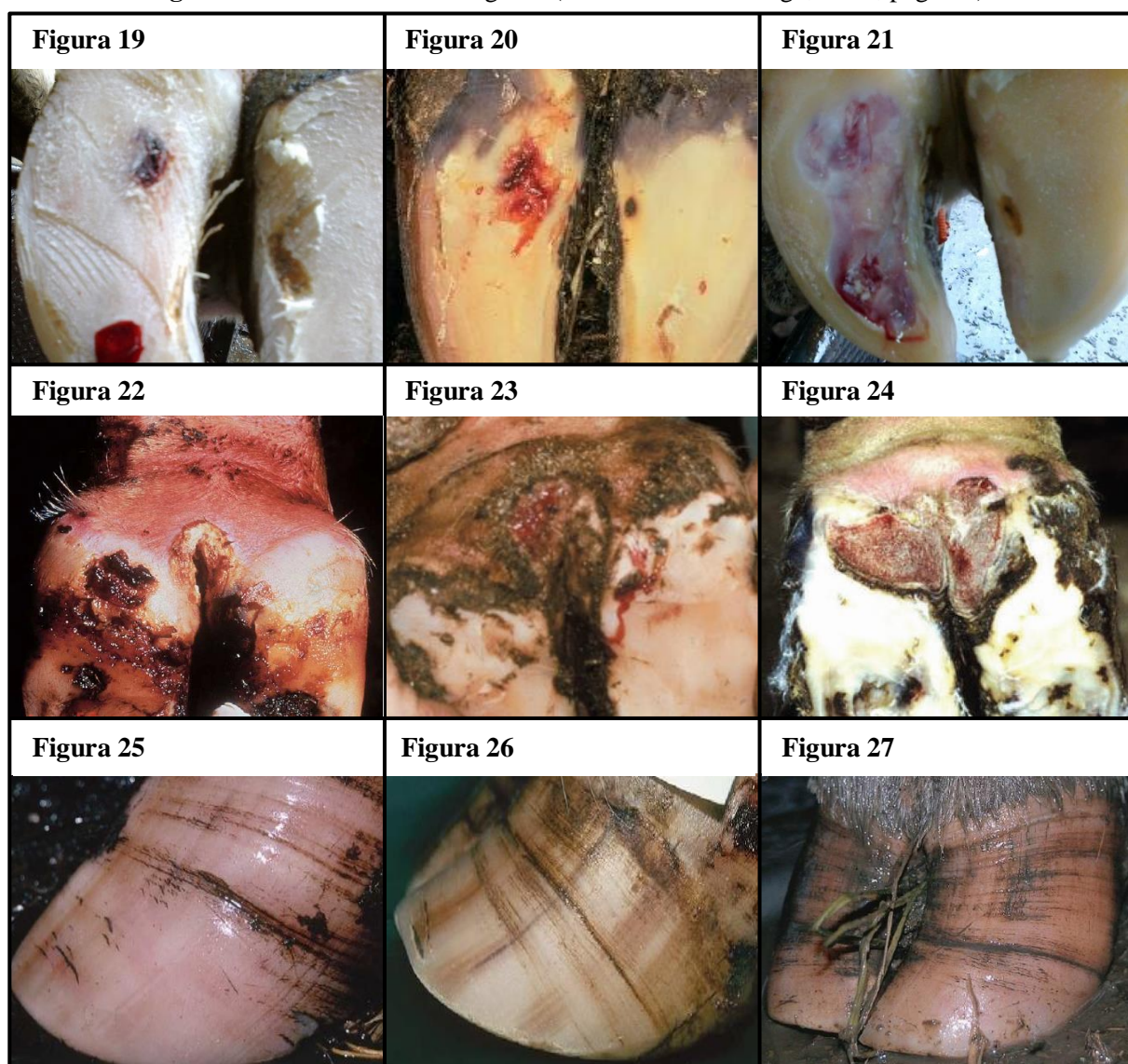
**Figura 23** - Dermatite digital moderada (retirado de Scott et al., 2011, pág.178).

**Figura 24** - Dermatite digital grave (retirado de Divers & Peek, 2008, pág.478).

**Figura 25** – Fissura horizontal ligeira (retirado de Greenough, 2007, pág.48).

**Figura 26** - Fissura horizontal moderada (retirado de Greenough, 2007, pág.39).

**Figura 27** - Fissura horizontal grave (retirado de Greenough, 2007, pág.234).



Foram também excluídos do estudo todos os animais com menos de 12 registos de CCS no período de um ano antes e um ano depois da observação inicial da claudicação.

### **3.4. Análise estatística**

A análise estatística foi realizada com recurso aos softwares Microsoft Excel Office Professional Plus 2010 e IBM SPSS Statistics 21.

Para a análise dos valores médios mensais totais foi realizado um teste t-student para uma amostra, por cada mês, de modo a determinar se os valores se desviam ou não da média geral da população. A esta análise seguiram-se testes ANOVA para amostras de tamanhos diferentes, com o objectivo de determinar em que intervalos de tempo a variabilidade das CCS poderia ser devida à ocorrência de claudicação ou apenas ao acaso. Com estes testes pretende-se determinar os períodos nos quais a ocorrência de claudicação tem efeito real na variação da CCS.

Na análise estatística dos efeitos dos diferentes tipos e gravidades de lesão observados foi realizado um teste de Kruskal-Wallis, com o objectivo de determinar a existência de diferenças significativas entre os grupos. A esta análise seguiram-se vários testes de Mann-Whitney U para identificar quais os grupos cujos valores médios diferem entre si.

Em todas as análises utilizou-se o valor  $\alpha=0,05$ .

## 4. Resultados

### 4.1. Registos totais

#### 4.1.1. Análise descritiva

Durante os meses em que o estudo foi elaborado a produção média de leite foi de 34,69 L/vaca/dia, variando entre os 31,71 e os 37,57 L/vaca/dia. A CCS média foi de  $229 \times 10^3$  células/mL de leite, com o mínimo de  $164 \times 10^3$  e máximo de  $316 \times 10^3$ . Adicionalmente, verificou-se uma média de 18 novos casos de mastite clínica por mês.

A distribuição das lesões observadas no estudo permite verificar que a lesão mais comum são as úlceras, com 196 ocorrências. A presença de lesões múltiplas e/ou em mais do que uma úngula é também bastante comum, com 102 casos, seguido de lesões de dermatite, com 59 ocorrências. As menos comuns são as claudicações em que só foram detectadas fissuras, com apenas 20 casos.

Quanto à gravidade da lesão, a maioria dos casos observados (143) foram relativos a lesões moderadas, seguidos de perto por lesões ligeiras, com 138 ocorrências. O número de casos graves foi 96.

Deve-se ainda referir que em 27 das observações incluídas no estudo não foi encontrada a origem da claudicação de qualquer lesão (Tabela 1).

**Tabela 1** – Distribuição da gravidade e tipo das lesões dos animais claudicantes  
(D / N. I. – Desconhecido / Não Identificado).

		Gravidade da lesão				Total
		D / N. I.	Ligeira	Moderada	Grave	
Tipo de lesão	D / N. I.	27	-	-	-	27
	Dermatite	-	14	24	21	59
	Fissura	-	1	12	7	20
	Úlcera	-	107	57	32	196
	Múltiplas	-	16	50	36	102
Total		27	138	143	96	404



Foi realizada uma análise descritiva das CCS das vacas afectadas por claudicação, no período de 12 meses antes (x-12) e 12 meses depois (x+12) da observação inicial de um animal em claudicação (x). Os resultados estão apresentados na forma de média  $\pm$  desvio-padrão na Tabela 2. Os valores médios totais variam entre as 201 e 377 x 10<sup>3</sup> células/mL de leite, sendo o valor máximo referente ao intervalo de 30 a 60 dias após o episódio de claudicação. São também referidas as médias e desvios-padrão das vacas com diferentes tipos e gravidades de lesão nos meses referidos.

**Tabela 2** – Análise descritiva da CCS do total das vacas claudicantes e dos diferentes tipos e gravidades de lesões causadoras de claudicação no período de 12 meses antes e 12 meses após a observação inicial da claudicação (x).

Mês	Total	Tipo de lesão				Gravidade da lesão		
		Úlceras	Dermatite	Fissura	Múltiplas	Ligeiras	Moderadas	Graves
	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP	Média±DP
x-12	205±434	192±345	226±442	208±313	161±228	139±219	188±270	340±743
x-11	224±486	204±424	358±944	185±215	223±504	135±206	206±382	387±784
x-10	219±440	191±346	199±492	193±259	281±632	163±413	205±287	333±619
x-9	219±478	153±288	383±866	310±570	321±697	131±303	246±407	334±721
x-8	227±448	220±476	197±467	441±500	230±447	138±281	253±413	352±653
x-7	227±554	224±630	302±725	409±701	186±326	191±714	216±349	322±560
x-6	270±612	199±444	159±184	380±799	408±854	163±366	393±802	294±620
x-5	249±608	209±479	175±280	543±1334	265±633	143±237	336±857	305±550
x-4	263±730	183±528	268±545	370±651	355±850	155±436	322±870	392±907
x-3	207±458	146±258	192±225	237±238	276±586	112±178	240±554	320±576
x-2	275±808	194±596	246±371	497±804	404±1152	155±413	256±638	546±1346
x-1	266±756	211±705	215±905	268±306	447±1024	162±555	240±441	535±1284
x+1	312±806	235±609	248±773	282±441	485±1156	157±344	294±944	608±1018
x+2	377±1103	224±872	287±698	210±246	695±1466	225±938	423±1019	622±1508
x+3	201±433	130±312	145±314	197±227	376±693	89±104	224±410	371±689
x+4	216±606	188±645	156±389	426±1296	276±446	130±275	205±333	408±1124
x+5	243±763	198±595	213±748	757±2092	192±373	234±800	180±287	412±1192
x+6	216±561	157±299	202±570	608±1780	235±468	127±228	254±476	319±925
x+7	202±438	206±492	152±162	318±499	255±481	235±616	207±388	199±305
x+8	280±627	205±495	230±762	598±717	447±931	193±596	342±690	340±621
x+9	260±581	237±534	115±169	549±1127	310±651	232±653	268±560	300±578
x+10	262±583	184±376	355±743	439±649	404±897	157±226	372±832	231±372
x+11	264±576	187±306	167±237	378±746	265±440	152±299	268±408	380±882
x+12	272±702	238±721	134±133	847±1419	259±594	245±889	355±785	198±263

Comparando a média total das CCS das vacas claudicantes com a média equivalente das vacas sem claudicação ( $215 \times 10^3$  células/mL de leite), observa-se que na grande maioria dos meses esse valor é superior.

As médias das CCS relativas totais das vacas claudicantes estão expressas no Gráfico 2. Relativamente aos animais saudáveis, a média de CCS das vacas claudicantes chegou a ser superior em 75,4%.

#### 4.1.2. Análise estatística

Foram realizados testes t-student independentes para uma amostra, para cada um dos meses em estudo, de modo a comparar os valores obtidos com a média dos animais saudáveis (sem claudicação) na exploração. Os resultados obtidos foram muito variáveis, sendo que apenas foram estatisticamente significativas nos meses x+1 e x+2 ( $p=0,02$  e  $p=0,01$ , respectivamente), ou seja, no período de até 60 dias após a observação inicial de claudicação (x) é possível afirmar-se que as CCS dos animais afectados é significativamente superior à dos animais sem claudicação (Tabela 3).

**Tabela 3** - Valores t , respectivas significâncias e intervalos de confiança dos testes t-student realizados aos animais claudicantes nos 12 meses antes (x-12 a x-1) e 12 meses depois (x+1 a x+12) de se ter observado claudicação , em comparação com o valor médio dos animais não-claudicantes. ( $\alpha = 0,05$ ).

gl – graus de liberdade; Sig – significância; IC 95% - Intervalo de confiança a 95%.

	t	gl	Sig	IC 95%			t	gl	Sig	IC 95%	
				Inferior	Superior					Inferior	Superior
<b>x-12</b>	-,383	259	,702	-63,35	42,70	<b>x+1</b>	2,303	362	,022	14,23	180,62
<b>x-11</b>	,295	261	,768	-50,25	67,98	<b>x+2</b>	2,705	338	,007	44,21	279,89
<b>x-10</b>	,139	269	,889	-49,00	56,46	<b>x+3</b>	-,578	326	,563	-60,99	33,28
<b>x-9</b>	,149	291	,882	-50,88	59,22	<b>x+4</b>	,037	320	,970	-65,30	67,83
<b>x-8</b>	,459	285	,646	-40,00	64,35	<b>x+5</b>	,639	302	,524	-58,27	114,26
<b>x-7</b>	,357	289	,721	-52,41	75,66	<b>x+6</b>	,021	271	,983	-66,22	67,67
<b>x-6</b>	1,495	280	,136	-17,29	126,40	<b>x+7</b>	-,436	230	,663	-69,27	44,17
<b>x-5</b>	,933	285	,352	-37,20	104,27	<b>x+8</b>	1,536	219	,126	-18,40	148,21
<b>x-4</b>	1,169	313	,243	-32,90	129,15	<b>x+9</b>	1,062	185	,290	-38,81	129,35
<b>x-3</b>	-,321	315	,748	-58,98	42,42	<b>x+10</b>	1,080	178	,281	-38,91	133,05
<b>x-2</b>	1,385	349	,167	-25,10	144,73	<b>x+11</b>	1,083	163	,280	-40,11	137,56
<b>x-1</b>	1,296	369	,196	-26,34	128,14	<b>x+12</b>	1,008	154	,315	-54,57	168,19

Adicionalmente foram realizadas diversos testes ANOVA para determinar em que intervalo de tempo as variações na CCS somáticas podem ser explicadas por um factor externo e não apenas devido a variações aleatórias.

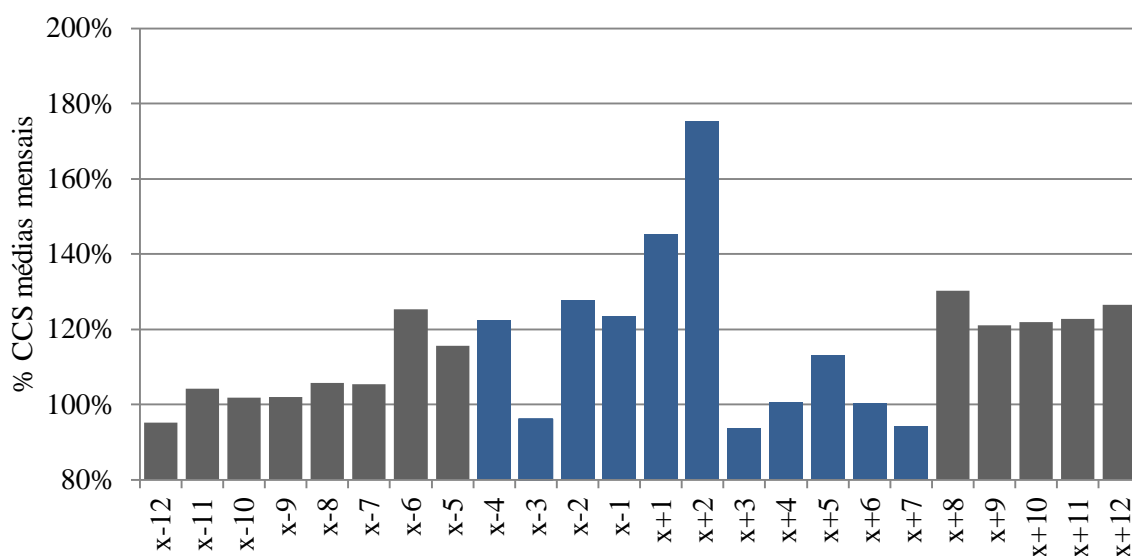
Observou-se que a significância foi tanto maior quanto menor o intervalo de tempo centrado no início da claudicação e o maior intervalo de tempo no qual os resultados são estatisticamente significativos é correspondente ao período decorrido entre 4 meses antes e 7 meses após a observação da claudicação (Tabela 4 e Gráfico 2).

**Tabela 4** - Tabela ANOVA para amostras de tamanhos diferentes para as observações entre 4 meses antes e 7 meses depois da ocorrência da claudicação.

ANOVA				
Fonte de Variação	Soma de Quadrados	Graus de Liberdade	Variância	Razão F
Entre grupos	9712496	10	971249,583	1,884324
Dentro dos grupos	1801451443	3495	515436,750	
Total	1811163939	3505		

**Valores F crítico : 1,79137316**

**Gráfico 2** – Variação relativa da CCS mensal da totalidade das vacas claudicantes no período de 12 meses antes (x-12 a x-1) e 12 meses depois (x+1 a x+12) de terem sido observadas claudicantes. A azul está assinalado o intervalo máximo no qual a variação da CCS destas vacas não pode ser atribuído apenas a ocorrências aleatórias.



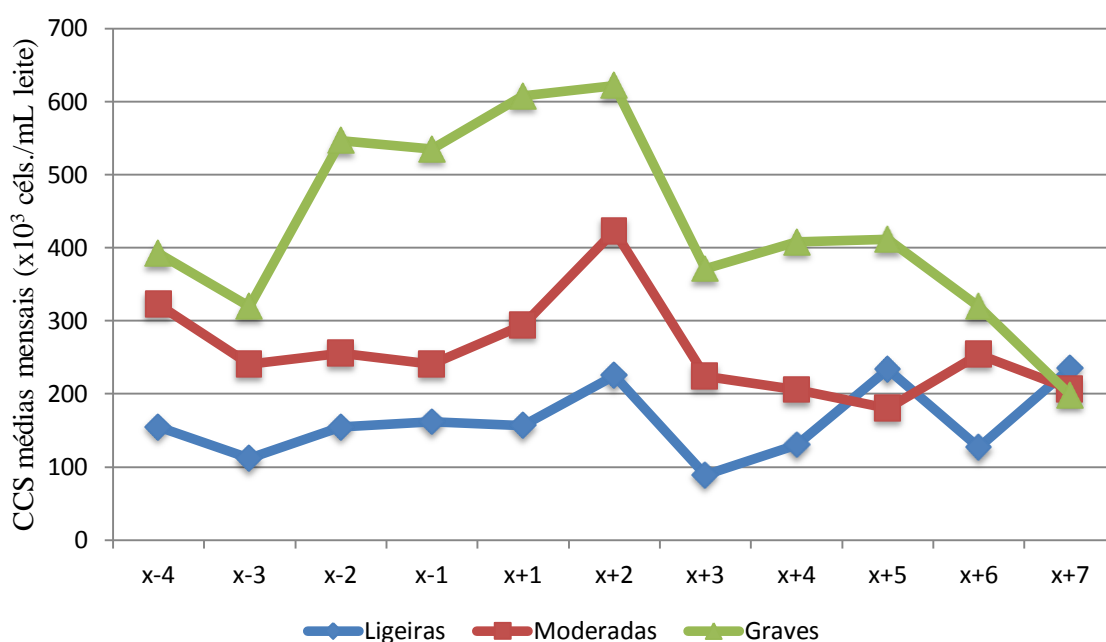
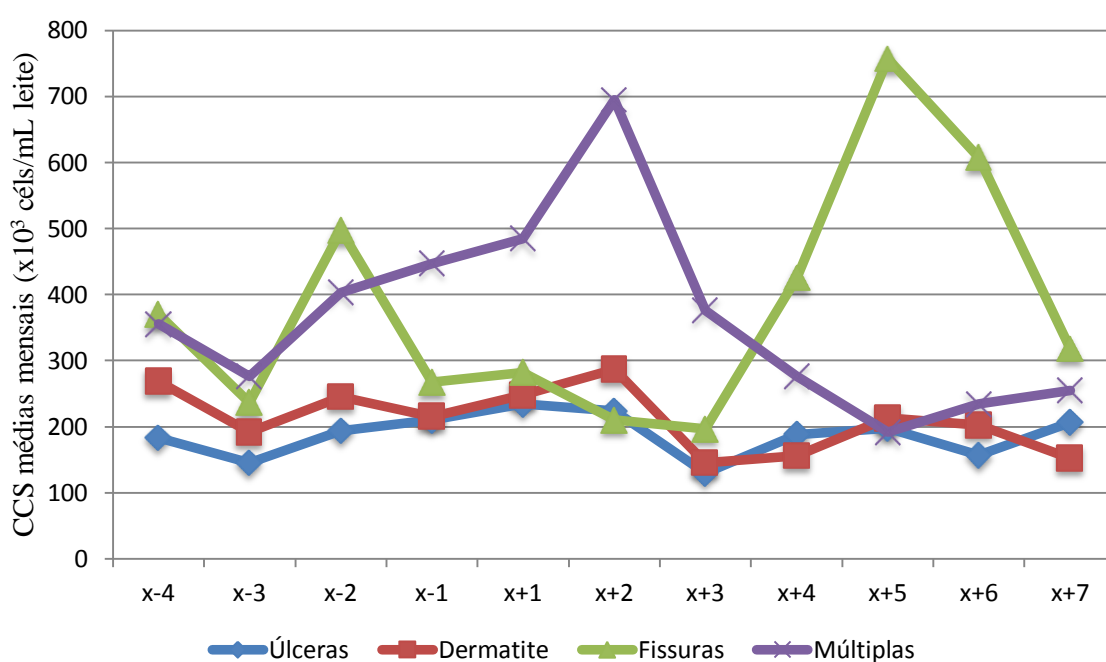
## 4.2. Tipo e gravidade da lesão

### 4.2.1. Análise descritiva

Tomando como base o período de tempo referido foram estudadas as médias das CCS para os diferentes tipos e gravidades de lesão. A sua evolução pode ser observada nos gráficos 3 e 4.

**Gráfico 3** – Distinção da evolução da CCS dos animais claudicantes no período de 4 meses antes (x-4 a x-1) e 7 meses depois (x+1 a x+7) da ocorrência do episódio inicial, com base no tipo de claudicação.

**Gráfico 4** – Distinção da evolução da CCS dos animais claudicantes no período de 4 meses antes (x-4 a x-1) e 7 meses depois (x+1 a x+7) da ocorrência do episódio inicial, com base na gravidade da claudicação.



As CCS obtidas a partir de animais com diferentes tipos e gravidades de lesão, no intervalo de tempo referido, estão também expressas em valores relativos na tabela 5.

**Tabela 5** – Frequências relativas das CCS médias mensais de animais claudicantes com diferentes tipos e gravidade de lesão , expressos em percentagens.

Mês relativo ao início da claudicação (x)		x-4	x-3	x-2	x-1	x+1	x+2	x+3	x+4	x+5	x+6	x+7
CCS médias mensais (%)												
Tipo de lesão	Úlcera	85,1	67,9	90,2	98,1	109,3	104,2	60,5	87,4	92,1	73,0	95,8
	Dermatite	124,7	89,3	114,4	100,0	115,3	133,5	67,4	72,6	99,1	109,3	70,7
	Fissura	172,1	110,2	231,2	124,7	131,2	97,7	91,6	198,1	352,1	282,8	147,9
	Múltiplas	165,1	128,4	187,9	207,9	225,6	323,3	174,9	128,4	89,3	109,3	118,6
Gravidade da lesão	Ligeira	72,1	52,1	72,1	75,3	73,0	104,7	41,4	60,5	108,8	59,1	109,3
	Moderada	149,8	111,6	119,1	111,6	136,7	196,7	104,2	95,3	83,7	118,1	96,3
	Grave	182,3	148,8	254,0	248,8	282,8	289,3	172,6	189,8	191,6	148,4	92,6

#### 4.2.2. Análise estatística

Para ambas as classificações foram realizados testes de Kruskal-Wallis de modo a se determinar se pelo menos um dos grupos difere dos outros.

Tanto para as médias de CCS de animais agrupados por diferentes tipos de lesão como para diferentes gravidades de lesão as significâncias foram muito elevadas ( $p=0,00$ ) (Tabela 6).

Com estes resultados, e sabendo que o teste de Kruskal-Wallis não permite diferenciar entre que grupos existe a(s) diferença(s) detectada(s), realizou-se uma série de testes de Mann-Whitney U entre dois grupos de forma a determinar quais diferiam significativamente.

Desta análise verificou-se que, para o tipo de lesão, as médias das CCS dos animais com úlceras são em geral inferiores às dos animais com fissuras ( $p=0,00$ ) e com lesões múltiplas ( $p=0,00$ ) mas não com animais dermatite ( $p=0,22$ ). As CCS dos animais com dermatite são também inferiores às dos animais com fissuras ( $p=0,01$ ) e às dos animais com lesões múltiplas ( $p=0,00$ ). As CCS dos animais com fissuras e lesões múltiplas não diferiu significativamente ( $p=0,92$ ).

Quanto à gravidade, foram encontradas diferenças entre todas as categorias, ( $p=0,01$  entre as CCS de animais com lesões ligeiras e moderadas,  $p=0,01$  entre as CCS de animais com lesões moderadas e graves e  $p=0,00$  entre as CCS de animais com lesões ligeiras e graves) (Tabela 6).

**Tabela 6** – Significâncias dos testes de Kruskal- Wallis e Mann-Whitney U para determinação de diferenças entre grupos.

Tipo de lesão		Gravidade da lesão	
Teste	sig		sig
<b>Kruskal-Wallis</b>	<i>0,000090</i>		<i>0,000032</i>
<b>Mann-Whitney U</b>	Úlcera/Dermatite	<i>0,224</i>	Ligeira/Moderada
	Úlcera/Fissura	<i>0,001</i>	Ligeira/Grave
	Úlcera/Múltiplas	<i>0,000</i>	Moderada/Grave
	Dermatite/Fissura	<i>0,007</i>	
	Dermatite/Múltiplas	<i>0,003</i>	
	Fissura/Múltiplas	<i>0,922</i>	

## 5. Discussão

Como já referido, a investigação das consequências da claudicação não tem sido alvo de grandes investimentos. Não obstante, ao longo dos anos foram efectuados alguns estudos nesta área que, contudo, relativamente à ligação entre a CCS e claudicações, não têm resultado em conclusões esclarecedoras. Num estudo realizado por Peeler et al. (1994), entre outras relações avaliadas, foi identificada uma associação positiva significativa entre a ocorrência de claudicações e de mastites. De acordo com os autores pode haver um factor ambiental que predispõe as vacas a ambas condições ou, alternativamente, propõem a possibilidade de uma das condições predispor os animais à outra. Yeruham, et al. (2000) estudaram, entre outras relações, as associações existentes entre a ocorrência de dermatite digital e a alteração da produção de leite e CCS total no tanque. No seu estudo observaram que as CCS duplicaram nos animais afectados por dermatite digital, e a produção leiteira de cada um destes animais baixou em média 1,7% por dia. Hultgren et al. (2004) não observaram qualquer relação entre a presença de úlceras podais e CCS elevadas, embora, de acordo com os autores, neste estudo os casos de claudicação tenham sido relativamente ligeiros. Num estudo mais recente, elaborado por Archer et al. (2011), foram identificadas em algumas explorações, associações negativas entre graus de claudicação (GC) e CCS, nos 10 dias seguintes à observação da claudicação. Nestas vacarias, verificaram que os animais com GC2 produziram, em média, leite com contagens celulares inferiores às do restante efectivo.

Observando a tabela 2 e o gráfico 2 é perceptível que, de um modo geral, há uma maior CCS nas vacas claudicantes relativamente à média dos restantes animais da exploração. De facto, em 20 dos 24 meses analisados em redor dos episódios iniciais de claudicação, a CCS média dos animais afectados foi superior. Esse aumento foi estatisticamente significativo nos 60 dias seguintes à primeira observação de um animal claudicante ( $p=0,02$  e  $p=0,01$ ). Neste intervalo de tempo, a CCS média dos animais afectados chegou a ser superior à dos restantes em  $150 \times 10^3$  células/mL ou 75,4%. De um modo geral esta relação está de acordo com a observada por Peeler et al. (1994), apesar de nesse estudo apenas se ter avaliado a relação entre a ocorrência de claudicações e mastites.

O grande aumento das CCS nesse período de 60 dias é um forte indício de se tratar da altura de maior sofrimento causado pela claudicação. É possível também que este intervalo de tempo reflita, imediatamente e a longo prazo, as alterações ocorridas na glândula mamária na fase mais aguda da claudicação.

Embora seja reconhecido que as vacas claudicantes, para além de afectadas por várias outras condições clínicas, são mais propensas ao desenvolvimento de mastites (Algers et al., 2009), a

relação de causalidade associada a estes aumentos não é clara (Archer et al., 2011), parecendo haver vários factores a ter em consideração.

Diversos estudos analisaram e compararam o comportamento diário de vacas leiteiras claudicantes e saudáveis. Embora alguns destes trabalhos não tenham observado diferenças no tempo despendido em descanso (Galindo et al., 2000), mesmo quando são empregues camas de areia (Gomez & Cook, 2010), a maioria dos autores concluiu que o período de tempo passado deitado é maior nas vacas que foram observadas a claudicar (Walker et al., 2009; Ito et al., 2010; Watters et al., 2013) ou com lesões podais, com destaque para as úlceras da sola (Chapinal et al., 2009). Logo, o tempo que as vacas permanecem de pé é inferior, diminuindo especialmente o tempo passado nos corredores e despendido na alimentação (González et al., 2008; Gomez & Cook, 2010).

Este aumento de tempo despendido em descanso, ao propiciar um maior contacto do úbere com as camas, solo, fezes, outros materiais orgânicos e, conseqüentemente, com os agentes infecciosos aí presentes (Hogan & Smith, 2003), aumentam o risco de infecções intramamárias (Watters et al., 2013) (Figura 28). Assim sendo, os principais agentes associados a estes aumentos das CCS serão provavelmente os organismos classicamente classificados como ambientais, com destaque para *E.coli* e *Strep. uberis*, frequentemente responsáveis por infecções subclínicas.

**Figura 28** – Vaca com canal do teto aberto em contacto com o material das camas (retirado de Scott et al., 2011, pág.217).





A dor inerente a estes casos contribui também para o aumento na CCS, pois o stress causado pode conduzir a uma redução da imunidade. Os animais não só ficam mais susceptíveis a infecções, tanto por agentes ambientais como contagiosos, como também a eficácia de eventuais imunizações é reduzida.

Para se poder avaliar os resultados obtidos é importante salientar as condições de manejo e higiene das vacas avaliadas, com destaque para as características das camas, cuja importância se deve à sua relação tanto com a ocorrência de lesões podais como de mastites (Bicalho & Oikonomou, 2013; Tucker et al., 2003). Os animais presentes neste estudo estavam alojados em parques com camas individuais e em número suficiente, o que reduz a probabilidade de ocorrência de agressão e de tempos de descanso reduzidos (Algers et al., 2009; Bicalho & Oikonomou, 2013). O material das camas era a areia, presente em quantidade adequada (Figura 29). A areia é geralmente empregue com o objectivo de redução da incidência de mastites e aumento do conforto dos animais (Westphal et al., 2011) e deve estar em quantidade suficiente para permitir tracção adequada quando as vacas se levantam, bem como evitar que estas contactem com o cimento quando deitadas. Caso isto não aconteça, as consequências no descanso podem ser bi-direccionais: *“as vacas claudicantes tanto podem passar mais tempo deitadas por lhes ser difícil porem-se de pé, ou podem passar mais tempo de pé devido à dificuldade em se levantarem”* (Gomez & Cook, 2010, tradução livre).

**Figura 29** – As vacas incluídas neste estudo estavam alojadas em parques colectivos com camas individuais de areia com tamanho adequado (fotografia original).



As camas eram de dimensões adequadas (Figura 29), o que permite espaço suficiente para os animais se levantarem e deitarem (Rodrigo Carvalho Bicalho & Oikonomou, 2013), bem como a excreção de fezes e urina directamente para os corredores, reduzindo o seu contacto com o úbere. As camas eram ainda mantidas em boas condições de higiene, ajudando a alcançar o mesmo objectivo. Adicionalmente, e como anteriormente referido, as vacas presentes neste estudo são, por rotina, cuidadosamente observadas e cada caso de claudicação tratado o mais rapidamente possível.

Este conjunto de factores leva a crer que os resultados poderiam ter sido bastante mais elevados caso a população em estudo fosse diferente, com prováveis aumentos significativos para além de 60 dias após a observação de claudicação, contrariamente ao que se verificou neste estudo.

As variações das CCS médias dos animais claudicantes ao longo do período de 24 meses não puderam neste estudo ser justificadas pela presença de claudicação. Este resultado é expectável e deve-se à grande variabilidade dos registos observados e ao grande intervalo de tempo considerado. De facto, ao reduzir-se o período analisado começa a tornar-se possível obter-se intervalos em que a variação é explicável. O maior intervalo de tempo no qual a evolução das CCS pode ser explicada por um factor externo, neste caso a presença de claudicação, é o período de 4 meses antes a 7 meses depois da observação inicial do problema. Isto significa que embora não se tenham detectado aumentos visíveis nas CCS em relação à média dos animais saudáveis na totalidade deste tempo (apenas nos primeiros 60 dias após), os efeitos de claudicação nas contagens são reais nesse intervalo.

Analisando as variações nas CCS dos animais com diferentes tipos de lesão (Gráfico 3), é visível a semelhança das curvas referentes a animais com úlceras e dermatite, demonstrada estatisticamente (Tabela 5). Os animais com lesões múltiplas e/ou em mais que uma úngula foram os que tiveram CCS maiores. Estes animais estão sujeitos a um maior stress e maiores alterações nos padrões de descanso e de tempo passado de pé comparativamente aos animais com lesões simples, pelo que nestes animais a infecção do úbere é mais acentuada e o combate à mesma menos eficaz.

Os animais com fissuras também apresentaram CCS mais elevadas, com um pico no período de 3 a 7 meses após a claudicação. Pensa-se que neste caso o resultado pode estar relacionado com a pequena amostra de animais com esta afecção (n=20) pelo que estes aumentos podem não ser representativos.

Comparativamente ao estudo realizado por Yeruham et al., (2000), no qual verificaram um aumento de aproximadamente 100% nas CCS de vacas com dermatite digital, os resultados deste estudo parecem concordantes, embora bastante inferiores (aumento de 33,5%), o que

também pode ser explicado pela política da exploração relativa a pedilúvios (2 vezes por semana).

Relativamente ao grau das lesões, o gráfico 4 e tabela 5 permitem observar uma clara relação directa entre a gravidade das lesões observadas e a CCS. Pensa-se que, novamente, esta relação se deve a um maior desconforto e alterações comportamentais, bem como deficiências imunitárias. As lesões ligeiras não parecem ter qualquer influência na CCS. Neste estudo, em alguns meses, os animais com este tipo de lesão apresentaram mesmo valores médios significativamente inferiores à da média dos animais saudáveis.

É interessante observar que nos animais com lesões moderadas e graves, tal como ocorria nos animais com lesões múltiplas e/ou em mais que uma úngula, os aumentos das CCS precedem em alguns meses o início da claudicação, o que pode ser indicativo de que, pelo menos em alguns animais, há uma relação de causalidade entre o aumento da CCS e a ocorrência de claudicação. Estes resultados são também consistentes com o intervalo anteriormente descrito. Esta relação pode dever-se a uma diminuição da imunidade e/ou alterações metabólicas devido a infecções prévias (particularmente da glândula mamária), predispondo para lesões podais e claudicação. Quando se utiliza a variação da CCS como método de diagnóstico, deve-se também considerar a futura ocorrência de claudicações como uma possibilidade real.

Os resultados obtidos neste estudo podem ajudar a justificar a importância da implementação de programas de prevenção de claudicações nas explorações de bovinos de leite. Estes programas devem incluir melhorias a nível das condições de habitação, práticas de gestão e controlo genético, especialmente em explorações com incidências de claudicação elevadas (Algers et al., 2009). As boas práticas de gestão devem incluir a elaboração e manutenção de registos actualizados e a realização de cortes funcionais e outros tratamentos podais periódicos, embora existam outras possibilidades que devem ser exploradas. Um exemplo deste tipo de práticas com efeitos comprovadamente benéficos é o agrupamento de vacas claudicantes num grupo separado, associado à diminuição do número de ordenhas diárias de três para duas, como realizado experimentalmente por Caixeta & Bicalho (2011). No seu estudo, para estes animais foi observada uma melhoria na condição corporal e na velocidade de recuperação das claudicações, para além de não ter havido diminuição na produção leiteira comparativamente às vacas claudicantes alojadas juntamente com animais saudáveis. Os resultados do estudo actual parecem indicar que a dor e alterações comportamentais podem ser visíveis a partir de 4 meses antes do início da claudicação, pelo que as explorações podem ter benefícios económicos, bem como no bem-estar animal, se melhorarem a forma de identificação destes animais e procederem ao seu tratamento precoce.

É também importante perceber quais as principais medidas empregues no controlo de mastites e na redução do número de células somáticas, de modo a analisar eventuais consequências negativas que estas possam ter com o controlo de claudicações, reduzindo ou mesmo anulando a sua eficácia.

Huijps et al., (2010) avaliaram quais as medidas mais eficazes para atingir estes fins. Algumas das medidas estão relacionadas com a ordenha, como a eliminação dos primeiros jactos, a utilização de pós-dip, a alteração da ordem de ordenha, (com os animais diagnosticados com mastite clínica e subclínica no final), seguida de lavagem da máquina. As restantes medidas estão ligadas ao manejo, e incluem uma secagem correcta dos tetos no final da lactação, com emprego de antibióticos e selantes, a optimização nutricional de acordo com o período da lactação, suplementação mineral apropriada das vacas no período seco, prevenção de excesso de animais nos parques, limpeza das camas e a manutenção das vacas em pé após a ordenha, no mínimo 30 minutos, mas preferencialmente mais de 90 minutos (Watters et al., 2013). Outras medidas incluem uma política correcta de refugo, selecção genética cuidadosa e melhoria do sistema imunitário, através da minimização do stress (Algers et al., 2009). Os resultados deste estudo indicam que estas medidas devem ser complementadas com a identificação e tratamento precoce de claudicações.

Como se compreende, a maioria destas medidas já foi referida como tendo um efeito positivo na redução da probabilidade de ocorrência de claudicação. Algumas das medidas podem criar, no entanto, um potencial conflito entre o controlo de mastites e de claudicações. Um exemplo disto consiste na manutenção das vacas de pé após a ordenha, que embora traga as vantagens já bastante estudadas no sentido de prevenção de mastites, pois embora permita evitar o contacto dos tetos com agentes contaminantes numa altura de maior vulnerabilidade, pode também ter efeitos negativos na prevalência de claudicações (Archer et al., 2011). De facto, este conflito é utilizado por Archer et al. (2011) para justificar a associação negativa entre a ocorrência de claudicação e o aumento da CCS que obtiveram na sua investigação, contrariamente aos resultados obtidos no presente estudo. Estes autores referem ainda que as vacas que tendem a ter claudicações são aquelas que têm maiores produções leiteiras, o que pode ser explicado pelo facto de passarem mais tempo de pé nos corredores a comer. Nessas vacas o efeito da diluição é suficiente para explicar as menores concentrações de células somáticas observadas. É preciso, no entanto, ter em consideração que estes resultados, como já referido, foram obtidos no período de apenas 10 dias após o episódio de claudicação. Tendo em vista que animais claudicantes passam menos tempo de pé, é expectável que haja uma diminuição da produção de leite destas vacas, anulando este efeito de diluição e invertendo os

resultados obtidos no estudo referido para além dos 10 dias, indo de encontro com os resultados obtidos no presente estudo.

Alguns países europeus já tomaram medidas adicionais no sentido da garantia do bem-estar dos seus efectivos leiteiros, no que diz respeito à ocorrência de claudicações, tendo como base o regulamento CE 853/2004, que exige que todo o leite produzido venha de vacas num “bom estado de saúde”. Na Holanda, por exemplo, optou-se por penalizar financeiramente os produtores pela presença de animais doentes nas suas explorações. Nesse país, o programa nacional de garantia de qualidade requer que o leite de vacas com claudicação grave seja mantido fora do tanque (Farm Animal Welfare Council, 2009a). Na Suécia a abordagem é realizada no sentido oposto, pois os consumidores estão a dispostos a pagar um valor extra por leite proveniente de explorações certificadas no cumprimento de certos critérios de conforto animal (Greenough, 2007).

## 6. Conclusão

Neste estudo observou-se que, durante a quase totalidade do período compreendido entre um ano antes e um ano depois da primeira observação de um animal com claudicação, as médias das CCS mensais das vacas afectadas foram superiores às das não-claudicantes.

Confirmou-se também a existência de uma associação positiva estatisticamente significativa entre a ocorrência de claudicações e o aumento da CCS, especialmente durante os 60 dias seguintes à observação inicial de um animal claudicante, com aumentos que chegaram a alcançar os 75,4% neste período.

O factor chave nesta relação parece estar associado com alterações comportamentais e na resposta imunitária, relacionados com as condições de manejo, especialmente no que se refere à higiene das camas e parques. Os resultados obtidos devem por isso ser encarados como sendo ainda mais relevantes se se tiver em conta que, de um modo geral, as vacas presentes neste estudo estavam sujeitas a excelentes condições nestes aspectos.

Em estudos futuros seria interessante aumentar ainda mais a amostra em análise, de modo a incluir animais de várias explorações, idealmente com diferentes níveis de higiene e manejo, para além de vários tipos de produção. Desse modo seria possível avaliar os efeitos das claudicações na magnitude da variação das CCS, relacionando-os com diferentes níveis de higiene e manejo, entre outros parâmetros. Outra possibilidade de estudo consiste também na análise da variação da CCS, mas com base na avaliação dos graus de claudicação observados, e incorporando também uma análise das alterações de comportamento relacionadas com os referidos graus. Um estudo deste tipo ajudaria a provar a relação de causalidade atribuída às alterações nos padrões de descanso e aumento da contaminação do úbere, com consequências na qualidade do leite.

No presente estudo verificou-se também que os aumentos nas CCS são maiores nas vacas cujas claudicações estão relacionadas com lesões múltiplas comparativamente a lesões únicas (úlceras ou dermatite), para além de haver uma relação directa entre a gravidade da lesão e o nível de aumento da CCS. Esta relação salienta a importância do controlo podal regular e tratamento precoce das lesões como ferramentas fundamentais na prevenção de aumentos adicionais nas contagens.

Assim, os resultados deste estudo e a sua extrapolação para a realidade de outras explorações servem para realçar ainda mais a importância da implementação de programas de combate às claudicações, não apenas do ponto de vista do bem-estar animal, mas também devido aos seus consideráveis benefícios económicos, particularmente a nível da qualidade do leite.

## Bibliografia

- Algers, B., Blokhuis, H. J., Botner, A., Broom, D. M., Costa, P., Domingo, M., ... Wierup, M. (2009). Scientific opinion on the overall effects of farming systems on dairy cow - Adopted on 05 June 2009. *The EFSA Journal*, 1143, 1–38.
- Algers, B., Blokhuis, H. J., Botner, A., Broom, D. M., Costa, P., Greiner, M., ... Wierup, M. (2009). Scientific opinion on welfare of dairy cows in relation to leg and locomotion problems based on a risk assessment with special reference to the impact of housing , Scientific Opinion of the Panel on Animal Health and Animal Welfare Adopted on 05 June 2009. *The EFSA Journal*, (1142), 1–57.
- Amory, J. R., Barker, Z. E., Wright, J. L., Mason, S. a, Blowey, R. W., & Green, L. E. (2008). Associations between sole ulcer, white line disease and digital dermatitis and the milk yield of 1824 dairy cows on 30 dairy cow farms in England and Wales from February 2003-November 2004. *Preventive veterinary medicine*, 83(3-4), 381–91. doi:10.1016/j.prevetmed.2007.09.007
- Archer, S. C., Green, M. J., & Huxley, J. N. (2010). Association between milk yield and serial locomotion score assessments in UK dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(9), 4045–4053. doi:10.3168/jds.2010-3062
- Archer, S. C., Green, M. J., Madouasse, a, & Huxley, J. N. (2011). Association between somatic cell count and serial locomotion score assessments in UK dairy cows. *Journal of dairy science*, 94(9), 4383–8. doi:10.3168/jds.2011-4276
- Barker, Z. E., Leach, K. a, Whay, H. R., Bell, N. J., & Main, D. C. J. (2010). Assessment of lameness prevalence and associated risk factors in dairy herds in England and Wales. *Journal of Dairy Science*, 93(3), 932–941. doi:10.3168/jds.2009-2309
- Behiry, A. El, Schlenker, G., Szabo, I., & Roesler, U. (2012). Science In vitro susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows with subclinical mastitis to different antimicrobial agents. *Journal of Veterinary Science*, 13(May 2011), 153–161.
- Bicalho, R C, Machado, V. S., & Caixeta, L. S. (2009). Lameness in dairy cattle: A debilitating disease or a disease of debilitated cattle? A cross-sectional study of lameness prevalence and thickness of the digital cushion. *Journal of dairy science*, 92(7), 3175–84. doi:10.3168/jds.2008-1827
- Bicalho, Rodrigo Carvalho, & Oikonomou, G. (2013). Control and prevention of lameness associated with claw lesions in dairy cows. *Livestock Science*, 1–10. doi:10.1016/j.livsci.2013.06.007
- Bruijnis, M., Hogeveen, H., Garforth, C., & Stassen, E. (2013). Dairy farmers' attitudes and intentions towards improving dairy cow foot health. *Livestock Science*, 155(1), 103–113. doi:10.1016/j.livsci.2013.04.005
- Buch, L. H., Sørensen, a C., Lassen, J., Berg, P., Eriksson, J.-Å., Jakobsen, J. H., & Sørensen, M. K. (2011). Hygiene-related and feed-related hoof diseases show different patterns of genetic correlations to clinical mastitis and female fertility. *Journal of dairy science*, 94(3), 1540–51. doi:10.3168/jds.2010-3137

- Buitenhuis, A. J., Lund, M. S., Thomasen, J. R., Thomsen, B., Nielsen, V. H., Bendixen, C., & Guldbrandtsen, B. (2007). Detection of quantitative trait loci affecting lameness and leg conformation traits in Danish Holstein cattle. *Journal of dairy science*, 90(1), 472–81. doi:10.3168/jds.S0022-0302(07)72649-8
- Caixeta, L. S., & Bicalho, R. C. (2011). Communication brève A pilot study to determine the production and health benefits of milking visibly lame cows twice daily compared with three times daily Résumé. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, (607), 233–236.
- Chapinal, N., de Passillé, a M., Weary, D. M., von Keyserlingk, M. a G., & Rushen, J. (2009). Using gait score, walking speed, and lying behavior to detect hoof lesions in dairy cows. *Journal of dairy science*, 92(9), 4365–74. doi:10.3168/jds.2009-2115
- Cook, N. B., Marin, M. J., Mentink, R. L., Bennett, T. B., & Schaefer, M. J. (2008). Comfort zone-design free stalls: do they influence the stall use behavior of lame cows? *Journal of dairy science*, 91(12), 4673–8. doi:10.3168/jds.2007-0910
- Danscher, A. M., Toelboell, T. H., & Wattle, O. (2010). Biomechanics and histology of bovine claw suspensory tissue in early acute laminitis. *Journal of dairy science*, 93(1), 53–62. doi:10.3168/jds.2009-2038
- De Vliegheer, S., Fox, L. K., Piepers, S., McDougall, S., & Barkema, H. W. (2012). Invited review: Mastitis in dairy heifers: nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *Journal of dairy science*, 95(3), 1025–40. doi:10.3168/jds.2010-4074
- Dingwell, R. T., Leslie, K. E., Schukken, Y. H., Sargeant, J. M., Timms, L. L., Duffield, T. F., ... Conklin, J. (2004). Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. *Preventive veterinary medicine*, 63(1-2), 75–89. doi:10.1016/j.prevetmed.2004.01.012
- Divers, T. J., & Peek, S. F. (2008). *Rebhun's diseases of dairy cattle* (Second Edi., p. 686). St. Louis: Saunders Elseviers.
- FAO and IDF. (2011). *Guide to good dairy farming practice* (p. 40). Roma.
- Farm Animal Welfare Council. (2009a). *Opinion on the welfare of the dairy cow* (p. 14). London.
- Farm Animal Welfare Council. (2009b). *OPINION ON THE WELFARE OF* (p. 16). London.
- Galindo, F., Broom, D. M., & Jackson, P. G. G. (2000). Short Communication A note on possible link between behaviour and the occurrence of lameness in dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*, (67), 335–341.
- Gomez, a, & Cook, N. B. (2010). Time budgets of lactating dairy cattle in commercial freestall herds. *Journal of dairy science*, 93(12), 5772–81. doi:10.3168/jds.2010-3436
- González, L. A., Tolkamp, B. J., Coffey, M. P., Ferret, A., & Kyriazakis, I. (2008). Changes in feeding behavior as possible indicators for the automatic monitoring of health disorders in dairy cows. *Journal of dairy science*, 91(3), 1017–28. doi:10.3168/jds.2007-0530



- Green, L. E., Hedges, V. J., Schukken, Y. H., Blowey, R. W., & Packington, a J. (2002). The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. *Journal of dairy science*, 85(9), 2250–6. doi:10.3168/jds.S0022-0302(02)74304-X
- Greenough, P. (2007). *Bovine Laminitis and Lameness* (1st ed., p. 304). Saunders Elseviers.
- Harmon, R. J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of dairy science*, 77(7), 2103–12. doi:10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8
- Hogan, J., & Smith, K. L. (2003). Review article: Coliform mastitis. *Veterinary research*, 34(5), 507–519. doi:10.1051/vetres
- Huijps, K., Hogeveen, H., Lam, T. J. G. M., & Oude Lansink, a G. J. M. (2010). Costs and efficacy of management measures to improve udder health on Dutch dairy farms. *Journal of dairy science*, 93(1), 115–24. doi:10.3168/jds.2009-2412
- Hultgren, J., Manske, T., & Bergsten, C. (2004). Associations of sole ulcer at claw trimming with reproductive performance, udder health, milk yield, and culling in Swedish dairy cattle. *Preventive veterinary medicine*, 62(4), 233–51. doi:10.1016/j.prevetmed.2004.01.002
- Huxley, J. N. (2012). Lameness in cattle: an ongoing concern. *The Veterinary journal*, 193(3), 610–1. doi:10.1016/j.tvjl.2012.06.039
- Ito, K., von Keyserlingk, M. a G., Leblanc, S. J., & Weary, D. M. (2010). Lying behavior as an indicator of lameness in dairy cows. *Journal of dairy science*, 93(8), 3553–60. doi:10.3168/jds.2009-2951
- Jenssen, H., & Hancock, R. E. W. (2009). Antimicrobial properties of lactoferrin. *Biochimie*, 91(1), 19–29. doi:10.1016/j.biochi.2008.05.015
- Kussendrager, K. D., & van Hooijdonk, a C. (2000). Lactoperoxidase: physico-chemical properties, occurrence, mechanism of action and applications. *The British journal of nutrition*, 84 Suppl 1, S19–25. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11242442>
- Laevens, H., Deluyker, H., Schukken, Y. H., De Meulemeester, L., Vandermeersch, R., De Muëlenaere, E., & De Kruif, a. (1997). Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *Journal of dairy science*, 80(12), 3219–26. doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)76295-7
- Laursen, M. V, Boelling, D., & Mark, T. (2009). Genetic parameters for claw and leg health, foot and leg conformation, and locomotion in Danish Holsteins. *Journal of dairy science*, 92(4), 1770–7. doi:10.3168/jds.2008-1388
- Lean, I. J., Westwood, C. T., Golder, H. M., & Vermunt, J. J. (2013). Impact of nutrition on lameness and claw health in cattle. *Livestock Science*, 1–17. doi:10.1016/j.livsci.2013.06.006
- Main, D. C. J., Barker, Z. E., Leach, K. a, Bell, N. J., Whay, H. R., & Browne, W. J. (2010). Sampling strategies for monitoring lameness in dairy cattle. *Journal of dairy science*, 93(5), 1970–8. doi:10.3168/jds.2009-2500

- Martins, S. (2010). Eficiência reprodutiva das explorações leiteiras na região norte de Portugal. *Revista Agros*, 14–18.
- Meyer, S. W., Weishaupt, M. a, & Nuss, K. a. (2007). Gait pattern of heifers before and after claw trimming: a high-speed cinematographic study on a treadmill. *Journal of dairy science*, 90(2), 670–6. doi:10.3168/jds.S0022-0302(07)71549-7
- Moon, J. S., Koo, H. C., Joo, Y. S., Jeon, S. H., Hur, D. S., Chung, C. I., ... Park, Y. H. (2007). Application of a new portable microscopic somatic cell counter with disposable plastic chip for milk analysis. *Journal of dairy science*, 90(5), 2253–9. doi:10.3168/jds.2006-622
- Onyiro, O. M., Offer, J., & Brotherstone, S. (2008). Risk factors and milk yield losses associated with lameness in Holstein-Friesian dairy cattle. *Animal : an international journal of animal bioscience*, 2(8), 1230–7. doi:10.1017/S1751731108002279
- Peeler, E., Otte, M., & Esslemont, R. (1994). Inter-relationships of periparturient diseases in dairy cows. *Veterinary Record*, 134(6), 129–132. doi:10.1136/vr.134.6.129
- Punyapornwithaya, V., Fox, L. K., Hancock, D. D., Gay, J. M., & Alldredge, J. R. (2012). Time to clearance of mycoplasma mastitis: The effect of management factors including milking time hygiene and preferential culling. *Canadian Veterinary Journal*, 53(October), 1119–1122.
- Pyörälä, S., & Taponen, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci-emerging mastitis pathogens. *Veterinary microbiology*, 134(1-2), 3–8. doi:10.1016/j.vetmic.2008.09.015
- Räber, M., Scheeder, M. R. L., Ossent, P., Lischer, C. J., & Geyer, H. (2006). The content and composition of lipids in the digital cushion of the bovine claw with respect to age and location--a preliminary report. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 172(1), 173–7. doi:10.1016/j.tvjl.2005.03.009
- Reyher, K. K., Dohoo, I. R., Scholl, D. T., & Keefe, G. P. (2012). Evaluation of minor pathogen intramammary infection, susceptibility parameters, and somatic cell counts on the development of new intramammary infections with major mastitis pathogens. *Journal of dairy science*, 95(7), 3766–80. doi:10.3168/jds.2011-5148
- Schepers, a J., Lam, T. J., Schukken, Y. H., Wilmink, J. B., & Hanekamp, W. J. (1997). Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *Journal of dairy science*, 80(8), 1833–40. doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)76118-6
- Schukken, Y. H., González, R. N., Tikofsky, L. L., Schulte, H. F., Santisteban, C. G., Welcome, F. L., ... Zadoks, R. N. (2009). CNS mastitis: nothing to worry about? *Veterinary microbiology*, 134(1-2), 9–14. doi:10.1016/j.vetmic.2008.09.014
- Schwarz, D., Diesterbeck, U. S., König, S., Brügemann, K., Schlez, K., Zschöck, M., ... Czerny, C.-P. (2011). Flow cytometric differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands. *Journal of dairy science*, 94(10), 5033–44. doi:10.3168/jds.2011-4348

- Scott, P. R., Penny, C. D., & Macrae, A. I. (2011). *Cattle Medicine* (1st ed., p. 288). Roslin: Manson Publishing.
- Syring, C., Boss, R., Reist, M., Bodmer, M., Hummerjohann, J., Gehrig, P., & Graber, H. U. (2012). Bovine mastitis: the diagnostic properties of a PCR-based assay to monitor the *Staphylococcus aureus* genotype B status of a herd, using bulk tank milk. *Journal of dairy science*, 95(7), 3674–82. doi:10.3168/jds.2011-4968
- Tarlton, J. F., Holah, D. E., Evans, K. M., Jones, S., Pearson, G. R., & Webster, a. J. F. (2002). Biomechanical and Histopathological Changes in the Support Structures of Bovine Hooves around the Time of First Calving. *The Veterinary Journal*, 163(2), 196–204. doi:10.1053/tvjl.2001.0651
- The National Mastitis Council. (2005). Human health risks associated with high somatic cell count milk (pp. 2–4).
- Tucker, C. B., Weary, D. M., & Fraser, D. (2003). Effects of Three Types of Free-Stall Surfaces on Preferences and Stall Usage by Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 86(2), 521–529. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73630-3
- Van der Linde, C., de Jong, G., Koenen, E. P. C., & Eding, H. (2010). Claw health index for Dutch dairy cattle based on claw trimming and conformation data. *Journal of dairy science*, 93(10), 4883–91. doi:10.3168/jds.2010-3183
- Van der Tol, P. P. J., Metz, J. H. M., Noordhuizen-Stassen, E. N., Back, W., Braam, C. R., & Weijs, W. a. (2003). The vertical ground reaction force and the pressure distribution on the claws of dairy cows while walking on a flat substrate. *Journal of dairy science*, 86(9), 2875–83. doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73884-3
- Vanderkelen, L., Ons, E., Van Herreweghe, J. M., Callewaert, L., Goddeeris, B. M., & Michiels, C. W. (2012). Role of lysozyme inhibitors in the virulence of avian pathogenic *Escherichia coli*. *PloS one*, 7(9), e45954. doi:10.1371/journal.pone.0045954
- Viguiier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., & O’Kennedy, R. (2009). Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in biotechnology*, 27(8), 486–93. doi:10.1016/j.tibtech.2009.05.004
- Walker, S. L., Smith, R. F., Routly, J. E., Jones, D. N., Morris, M. J., & Dobson, H. (2009). Europe PMC Funders Group Lameness , Activity Time-Budgets , and Estrus Expression in Dairy Cattle. *Journal of dairy science*, 91(12), 4552–4559. doi:10.3168/jds.2008-1048.Lameness
- Watters, M. E. A., Meijer, K. M. a, Barkema, H. W., Leslie, K. E., von Keyserlingk, M. a G., & Devries, T. J. (2013). Associations of herd- and cow-level factors, cow lying behavior, and risk of elevated somatic cell count in free-stall housed lactating dairy cows. *Preventive veterinary medicine*, 111(3-4), 245–255. doi:10.1016/j.prevetmed.2013.05.015
- Wells, S. J., Garber, L. P., & Wagner, B. a. (1999). Papillomatous digital dermatitis and associated risk factors in US dairy herds. *Preventive veterinary medicine*, 38(1), 11–24. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10022049>

- Westphal, A., Williams, M. L., Baysal-Gurel, F., LeJeune, J. T., & McSpadden Gardener, B. B. (2011). General suppression of *Escherichia coli* O157:H7 in sand-based dairy livestock bedding. *Applied and environmental microbiology*, 77(6), 2113–21. doi:10.1128/AEM.01655-10
- Zadoks, R., & Fitzpatrick, J. (2009). Changing trends in mastitis. *Irish veterinary journal*, 62 Suppl 4(Defra), S59–70. doi:10.1186/2046-0481-62-S4-S59

## **Anexo 1 – Relatório de estágio**

O estágio curricular foi dedicado à clínica de bovinos de leite e decorreu em sua totalidade na exploração Fonte de Leite Lda., localizada na Azambuja. Trata-se de uma exploração intensiva de vacas de leite, com um efectivo que variou entre os 722 e 802 animais nesse período.

A duração total do estágio foi de aproximadamente 7 meses, entre 11 de Setembro de 2012 e 30 de Abril 2013, sendo que nesse período de tempo o horário semanal foi das 8h às 17h e ocasionalmente foram realizadas algumas horas ao fim-de-semana.

O estágio consistiu no acompanhamento do Dr. José Alface nas suas actividades diárias e na sua duração foram atribuídas diferentes tarefas ao estagiário, de acordo com a rotina da exploração ou ocorrências pontuais. A autonomia do estagiário no cumprimento das tarefas foi aumentando progressivamente, juntamente com a complexidade das mesmas.

De um modo geral, as actividades realizadas podem ser divididas em 4 grandes áreas:

1. Gestão da exploração
2. Clínica e cirurgia
3. Sala de ordenha e qualidade do leite
4. Viteleiro

### **1 . Gestão da exploração**

As actividades desenvolvidas nesta área iniciaram-se com uma aprendizagem e ambientação ao funcionamento geral dos diferentes sectores, trabalhos e rotinas da vacaria. Nesta fase o estagiário ganhou também conhecimento na utilização do software de gestão utilizado. Participou ainda nas tarefas de separação de vacas por parques.

O estagiário desenvolveu também diversas actividades relacionadas com a reprodução do efectivo. Essas tarefas incluíram a detecção deaios em horários definidos, através da observação do comportamento das vacas, administração de hormonas no âmbito dos protocolos de PreSynch e OvSynch, auxílio na preparação das palhinhas de inseminação artificial e visualização de ecografias com o objectivo de controlo reprodutivo. O estagiário teve a oportunidade, durante o tempo de estágio, de realizar diversos diagnósticos de gestação por palpação rectal.

O estagiário acompanhou ainda, durante um dia, todo o processo de preparação e fornecimento de alimento às vacas com recurso a UniFeed.

## 2. Clínica e cirurgia

Esta área foi uma das mais desenvolvidas pelo estagiário e as tarefas realizadas bastante variadas.

O estagiário procedeu à recolha de dados individuais e colectivos de produção leiteira, de modo a serem utilizados como auxiliares de diagnóstico. Foi também possível a realização de exames de avaliação do estado geral das vacas, nomeadamente a auscultação ruminal e cardiopulmonar, verificação da temperatura, palpação rectal, análise de urina com recurso a fitas e detecção sanguínea de corpos cetónicos. Os exames físicos incidiram também sobre o sistema reprodutor, com a realização de palpações rectais para avaliação do grau de involução uterina e diagnóstico de metrites, bem como a utilização de Metricheck para recolha e avaliação do corrimento. O estagiário participou no processo de diagnóstico de diversas afecções, nomeadamente acidose ruminal, cetose, deslocamentos do abomaso, hipocalcémia, metrite, mastite, patologias podais e retenção placentária.

Por diversas vezes o estagiário auxiliou também a detecção de claudicações e observou a realização de tratamentos podais e corte funcionais.

Além da realização de exames físicos, o estagiário procedeu à realização de vários tratamentos médicos, nomeadamente administração de soro e medicamentos, vacinação, canulação uterina para administração de antibióticos e entubação esofágica.

O estagiário observou ainda a correcção de vários casos de distócia, tendo participado na realização de alguns destes partos.

Quando foi necessária a realização de cirurgias, o estagiário teve como tarefas a preparação do material cirúrgico, a preparação do animal, administração de anestesia, assistência ao veterinário e participação na cirurgia. Durante o tempo de estágio foram realizadas 10 correcções de deslocamentos do abomaso, 2 cesarianas e uma correcção de pneumovagina. Sempre que necessário o estagiário procedeu à monitorização pós-cirúrgica dos animais.

## 3. Sala de ordenha e qualidade do leite

Para além de ter aprendido e observado o funcionamento da sala de ordenha e das suas máquinas, foi também possível ao estagiário proceder ao diagnóstico de mastites através da realização de inúmeros testes californianos de mastites (TCM). O estagiário procedeu ao tratamento das referidas mastites e auxiliou a secagem das vacas com recurso a antibióticos intramamários e selantes de tetos. Procedeu também à recolha de amostras de leite para análise bacteriológica e para contagem de células somáticas do tanque.

#### 4.Viteleiro

As tarefas aqui desenvolvidas por vezes variaram consoante as necessidades diárias, sendo que neste âmbito o estagiário forneceu auxílio na alimentação, gestão da ocupação dos parques, diagnóstico e tratamento de doenças.

De um modo rotineiro o estagiário participava ainda na vacinação e nos processos de descorna e corte de caudas.

Assim, o estágio foi concluído com sucesso, pois permitiu a aquisição de uma série de novos conhecimentos teóricos e, especialmente práticos, para além da consolidação dos já obtidos.

**Anexo 2 - Exemplo da tabela utilizada para organização das CCS com base na data de ocorrência de claudicação.**

	VACA		209	241	312	399	399	442	475	
	DATA CLAUD.		06-01-2010	22-02-2011	10-12-2011	15-03-2011	24-04-2011	07-05-2012	06-03-2012	
	DATA TRAT.		11-01-2010	01-03-2011	11-01-2012	16-03-2011	03-05-2011	07-05-2012	12-03-2012	
	TIPO		UM/UM	UG	DG	UG	UM	UG/UG	UG	
Data do contraste leiteiro			...							:
	15-09-2009	212				15	103	140		
	16-10-2009	3041			2360	42		54		
	17-11-2009	309	696	232		14	29			
	15-12-2009	175	424	254		18	9			
	14-01-2010	286	2054	110		238	73	259		
	15-02-2010			86		169	37	22		
	18-03-2010	167	173	227		384	13	8		
	20-04-2010	44	948	520			33	17		
	20-05-2010	76	258				36	42		
	22-06-2010	51	501				102	88		
	23-07-2010	182	227				66	109		
	24-08-2010	98	126				74	65		
	21-09-2010	187	313	659		123		78		
	19-10-2010	186	93	728		46		81		
	16-11-2010	160		85		50	768	123		
	14-12-2010	236	332	239		21	3389	306		
	16-01-2011	367	581	307		24	40			
	17-02-2011	406	3312	474		84	223	51		
	17-03-2011	409	477	281		238	70	23		
	15-04-2011	611	9366	615		478	119	207		
	18-05-2011					519	283	23		
	17-06-2011					496	161	31		
	19-07-2011	3797					10	56		
	19-08-2011	150		829		1313	116	96		
	21-09-2011	4541		21		7903	43	85		
	18-10-2011	201		1001		528	45	65		
	15-11-2011	310		71		2119		62		
	15-12-2011	365		81		49	53	336		
	17-01-2012	1662		306		98	353	90		
	17-02-2012	5845		560		176	67	124		
	20-03-2012					76	125	139		
	19-04-2012	208				161	648	51		
	22-05-2012	247				156	4183	31		
	21-06-2012	501				22		38		
	24-07-2012	419		1435		222		144		
	23-08-2012	425		412		279		98		
	20-09-2012			177				92		
	16-10-2012	85		1552				136		



**Anexo 3 - Exemplo da tabela utilizada para organização das CCS relativamente à data de ocorrência de claudicação e tipo / gravidade da lesão.**

	VACA	209	241	312	399	442	475	485	512	556	584	584	584	598	
Lesão	Tipo	M	U	D	U	M	U	U	U	M	U	U	U	F	
	Gravidade	M	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	
CCS média mensal (x - início da claudicação) (x1000 células/mL leite)	x-12		173	239	24	283	23		46	65		136	2265	95	
	x-11		948	307	10	161	207	97		743			340	48	
	x-10	26	258	474	225	10	23	175		90	2197		233	63	
	x-9	60	501	281	81	116	31	233	49	118	1707	144	549	53	
	x-8	22	227	615	322	43	56	145	17	132	799	209	745	164	
	x-7	79	126		185	45	96	392	52	260	1423	323	126	101	
	x-6		313				85		3340	307	505		86	178	
	x-5		93			53	65		431	346	2265		114	809	
	x-4	212		829	15	353	62	80	119		340		283	215	
	x-3	3041	332	21	42	67	336	203	498	33	233	2197			
	x-2	309	581	1001	14	125	90		149		549	1707	129		...
	x-1	175	3312	71	18	648	124		312	27	745	799	526	273	
	x+1	286	477	81	238	4183	139	120	76	190	126	1423	967	411	
	x+2		9366	306	169		51	881	151	276	86	505	10	218	
	x+3	167		560	384		31	688		18	114	2265	70	135	
	x+4	44					38	7782		57	283	340	59	203	
	x+5	76					144	443		58		233	1168	142	
	x+6	51					98	781		96	129	549	89	255	
	x+7	182					92	139			526	745	74	104	
	x+8	98		1435			136	811			967	126	71	315	
	x+9	187		412	123						10	86	506	204	
	x+10	186		177	46						70	114	105	193	
	x+11	160		1552	50						59	283	349	211	
	x+12	236			21						1168		179	301	